



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**TITULO:**

**EFFECTO DE LA PROGESTERONA PARENTERAL APLICADA EN EL DÍA 3  
POST INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO SOBRE LA FERTILIDAD DE  
VACAS DE CARNE**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE MAGISTER EN  
REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**AUTOR: M.v.z César Augusto Rojas Román C.I. 110454444-8**

**DIRECTOR: Dr. René Hermógenes Chamba Ochoa Mg.Sc. C.I 110211667-8**

**CUENCA, ECUADOR**

**2017**



## RESUMEN

En este estudio se evaluó el efecto de la aplicación de bajas dosis de progesterona (P4) de larga acción, a los tres días posterior a la inseminación artificial (IA), sobre el porcentaje de concepción temprana. Se realizó en la Hacienda “la Clementina, Babahoyo-Ecuador, en 180 vacas de carne Bos Indicus, entre 3 a 6 años de edad, condición corporal (CC) 2,5 a 3, clínicamente sanas, alimentadas al pastoreo, divididas en tres grupos: un control G1 ( $n_1=60$ ), y dos grupos experimentales: G2 ( $n_2=60$ ) 75mg de P4 y G3 ( $n_3=60$ ) 100mg de P4, respectivamente. Se realizó un protocolo de IATF a base de BE, progesterona, prostaglandina y eCG para sincronizar celo, luego de la IA programada, a los 3 días post-IA se aplicó P4 (SC). Se midió el porcentaje de preñez en dos instancias a los 30 días y a los 50 días.

Se usó un diseño completamente al azar (DBA), los datos se analizaron usando la prueba de chi-cuadrado utilizando el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS (SAS University Edition, 2016), considerando la preñez como una variable binomial; donde no se detectaron diferencias significativas en el diagnóstico de preñez a los 35 d ( $P=0,77$ ) o a los 50 d (0,64) post IA. Observándose tasas medias de gestación a los 35 d del 53,35% y a los 50 d del 46.5%. con respecto al grupo control; Además los tratamientos no influyeron significativamente ( $P=0.83$ ) sobre la proporción de animales que se mantuvieron preñadas a los 50 días, respecto al chequeo de las mismas vacas a los 35 días de gestación 85.9% de las vacas gestantes a los 35 d post IA, mantuvieron la gestación a los 50 d post IA. En conclusión, la administración exógena de bajas dosis de P4 vía SC en vacas de carne Bos indicus en la zona tropical a los 3 días post IA no afecta el porcentaje de concepción.

## PALABRAS CLAVE

PROGESTERONA, CUERPO LÚTEO, PROSTAGLANDINA, ECOGRAFÍA.



## ABSTRACT

This study evaluated the effect of the application of low dose of progesterone (P4) with long acting, three days after to the artificial insemination (AI), on the percentage of early conception. This study was done in the “Hacienda La Clementina”, in Babahoyo-Ecuador, in 180 beef cows of *Bos Indicus*, between 30 and 40 months of age, body condition (CC) between 2.5 and 3, clinically healthy, fed by method of grazing, divided into three groups: a control G1 (n1= 60), and two experimental groups: G2 (n2=60) 75mg of P4 and G3 (n3= 60) 100mg of P4, respectively. We performed a protocol of AITF based on BE, progesterone, prostaglandin and eCG to synchronize estrus, after of the programmed AI, at 3 days post-AI was applied P4 (SC). The percentage of pregnancy in two instances was measured at 30 days and at 50 days.

A completely randomized design (DBA) was used, data were analyzed using the chi-square test using the GENMOD procedure of the SAS statistical package (SAS University Edition, 2016), considering pregnancy as a binomial variable; Where no significant differences were detected in pregnancy diagnosis at 35 d ( $P = 0.77$ ) or at 50 d (0.64) post AI. Average gestation rates were observed at 35 d of 53.35% and at 50 d of 46.5%. With respect to the control group; In addition, the treatments did not significantly influence ( $P = 0.83$ ) the proportion of animals that remained pregnant at 50 days, compared to 35 days of gestation at the 35th day of pregnancy. 85.9% of pregnant cows at 35 d post IA, Maintained gestation at 50 d post IA. In conclusion, the exogenous administration of low doses of P4 via SC in *Bos indicus* beef cows in the tropical zone at 3 days post AI does not affect the percentage of conception.

## KEYWORDS

PROGESTERONE, LUTY BODY, PROSTAGLANDINE, ECOGRAPHY.



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	2
TABLA DE CONTENIDOS .....	4
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS .....	8
LISTA DE ANEXOS .....	9
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	10
CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR.....	12
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL .....	13
AGRADECIMIENTOS .....	14
DEDICATORIA.....	15
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	16
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	19
2.1. Endocrinología del ciclo estral.....	19
2.1.4. Hipotálamo. ....	22
2.1.5. Hipófisis .....	22
2.4. Ovarios.....	23
2.1.7 Útero .....	23
2.2. Fisiología del ciclo estral de la vaca.....	24
2.2.1. Fases del Ciclo Estral .....	24
2.2.1.1. Estro.....	24
2.2.1.2. Metaestro. ....	24
2.2.1.3. Diestro.....	25
2.2.1.4. Proestro.....	25
2.2.2. Dinámica folicular.....	25
2.3. Hormonas de la reproducción. ....	27
2.3.1. Estructura de las hormonas. ....	27
2.3.2. Hormonas hipotalámicas.....	27
2.3.3. Hormonas Adenohipofisiarias. ....	28
2.3.3.1. Hormona folículoestimulante.....	28
	4



2.3.3.2. Hormona luteinizante .....	29
2.3.4. Hormonas esteroides gonadales.....	29
2.3.4.1. Estrógenos.....	29
2.3.4.2. Progesterona.....	30
2.3.5 Prostaglandina. ....	34
2.4. Sincronización del celo y ovulación.....	35
2.4.1. Utilización de dispositivos de liberación de progesterona. ....	36
2.4.2. Protocolo con Gonadotropina Coriónica Equina. ....	36
2.4.3. Regulación de la progesterona, síntesis y acción en el cuerpo lúteo. ....	38
2.4.4. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo	38
2.4.5. Regresión luteal. ....	39
2.5. Fisiología de la gestación.....	41
2.5.1 Gestación.....	41
2.5.2. Implantación.....	42
2.5.3 Reconocimiento Materno Embrionario. ....	43
2.5.4. Alteración en proceso de fecundación e implantación. ....	44
2.5.5. Suplementación con progesterona después del servicio. ....	44
2.6. Principios básicos de ecografía.....	45
2.6.1. Ecografía reproductiva. ....	45
2.6.1.1. Fundamentos Físicos.....	45
2.6.1.2. Hiperecogénico, hiperecoico. ....	46
2.6.1.3. Hipoecogénico, hipoecoico. ....	46
2.6.1.4. Anecogénico, anecoico. ....	46
2.7. Diagnóstico de gestación. ....	47
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS .....	49
3.1. Materiales .....	49
3.1.1. Materiales biológicos.....	49
3.1.2. Materiales químicos .....	49
3.1.3. Materiales físicos .....	49
3.2. Ubicación .....	49



3.3. Características de la unidad de análisis.....	50
3.4. Metodología.....	51
3.4.1. Protocolo de IATF.....	51
3.4.2. Aplicación de progesterona exógena.....	52
3.5. Variables de estudio.....	52
3.6. Diseño experimental y pruebas estadísticas.....	53
CAPITULO IV: RESULTADOS .....	54
4.1. Diagnósticos de preñez.....	54
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	57
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	60
6.1. Conclusiones.....	60
6.2. Recomendaciones .....	60
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
ANEXOS .....	73



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Protocolo de sincronización de celo y de ovulación en vacas cebú .....	51
Tabla 2. Tratamiento de suplementación de P4 exógeno en vacas cebú .....	52
Tabla 3. Porcentaje de preñez a los 35 y 50 días .....	54
Tabla 4. Nivel de significancia entre tratamientos .....	55
Tabla 5. Pérdidas embrionarias en vacas cebú luego de la administración de P4 subcutánea al momento de IATF .....	55

---

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la dinámica folicular del ciclo estral de la vaca (Lenis <i>et al</i> , 2014). .....	26
Figura 2. Dinámica de la progesterona durante el ciclo estral de la vaca.....	30
Figura 3. Dinámica de la prostaglandina durante el ciclo estral de la vaca.....	35
Figura 4. Ultrasonografía de folículos (autor).....	47
Figura 5. Diagnóstico de Preñez por Ultrasonido (autor).....	48
Figura 6. Ubicación de la Hacienda donde se realizó la Investigación.....	48





## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Registros de preñez del grupo control a los 35 días post Inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	72
Anexo 2. Registros de preñez del tratamiento 1 (75mg) a los 35 días post Inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	74
Anexo 3. Registros de preñez del tratamiento 2 (100mg) a los 35 días post Inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	76
Anexo 4. Registros de preñez del grupo control a los 50 días post Inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	78
Anexo 5. Registros de preñez del tratamiento 1 (75mg) a los 50 días post Inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	80
Anexo 6. Registros de preñez del tratamiento 2 (100mg) a los 50 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.....	82
Anexo 7. Porcentaje de preñez a los 35 y 50 días. ....	84
Anexo 8. Análisis chi 2 Utilizando el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS University Edition a través de una regresión logística, considerando la preñez como una variable binomial.....	84
Anexo 9. Registros Fotográficos del protocolo de Inseminación artificial a tiempo fijo.....	85
Anexo 10. Aplicación de progesterona parenteral a los tratamientos 1 y 2 al día 3 post inseminación artificial .....	86
Anexo 11. Registros ecograficos del diagnóstico de gestación.....	87

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

ACTH	Hormona adenocorticotropa
BE	Benzoato de estradiol
bINT-T	Interferón trofoblástico bovino
CEEP	Células endometriales epiteliales bovinas
CEES	Células endometriales estromales bovinas
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
CL	Cuerpo lúteo
CIDR	Dispositivo intravaginal bovinos
ECP	Cipionato de estradiol
E <sub>2</sub>	17 $\beta$ -Estradiol
FSH	Hormona folículoestimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
GRH	Hormona liberadora de crecimiento
IA	Inseminación artificial
IATF	Inseminación artificial a tiempo fijo
mcg	Microgramos
mg	Miligramos
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar



ng/ml	Nanogramos/mililitros
Ox	Oxitocina
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina
PIH	Hormona liberadora de prolactina
P4	Progesterona
TRH	Hormona liberadora de tirotrópina
UI	Unidades internacionales
US	Ultrasonido
VE	Valerato de estradiol
ZP	Zona pelúcida

## CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR

César Augusto Rojas Román, autor de la tesis “Efecto de la progesterona parenteral aplicada en el día 3 post inseminación artificial a tiempo fijo sobre la fertilidad de vacas de carne”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art.5 literal c) de su reglamento de propiedad intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magister en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicara afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 25 de Octubre del 2017



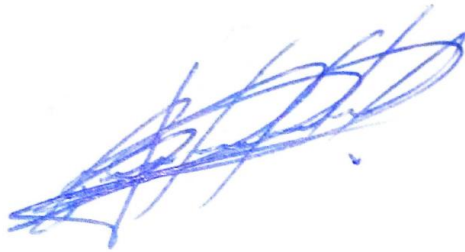
César Augusto Rojas Román

C.I 110454444-8

## CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

César Augusto Rojas Román, autor de la tesis “Efecto de la progesterona parenteral aplicada en el día 3 post inseminación artificial a tiempo fijo sobre la fertilidad de vacas de carne”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 25 de Octubre del 2017



César Augusto Rojas Román

C.I 110454444-8



## AGRADECIMIENTOS

A Mi agradecimiento y afecto a los directivos, docentes y administrativos de la Universidad de Cuenca, Área de Post Grados , Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la que recibí valiosos conocimientos.

De igual manera un agradecimiento especial al Director de tesis Dr. Hermógenes René Chamba Ochoa director y al Dr. Ricardo Alberio PhD.; quienes con su capacidad intelectual y calidad humana supieron orientar exitosamente la presente investigación.

Finalmente mi más profundo agradecimiento a mi esposa, familia y todas las personas que de una u otra manera contribuyeron a la realización y culminación de la presente tesis investigativa.

César Augusto Rojas



## DEDICATORIA

Hago una Exhortación a la magna voluntad que se desprende de la búsqueda del conocimiento y la sabiduría de cada uno de los verdaderos herederos de la verdad. Quiero dedicar este trabajo a mi Esposa, María Dolores, quien con su infinito amor ha llegado a hacer un pilar fundamental en mi existencia, a mis padres Graciela y César mentores y guías en mi sendero, a mis honorables hermanos que han acompañado perpetuamente mi real sendero.

César Augusto Rojas.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores problemas en las explotaciones de ganado destinado a la producción de carne y leche son bajos índices reproductivos; Bajos porcentajes de fertilidad y altos números de días abiertos que provocan pérdidas económicas muy importantes (Sosa, 2000).

En el ganado vacuno, aproximadamente el 40% de pérdidas en la concepción se estima que ocurre entre 8 a 16 días de gestación (Lonergan, 2011).

Muchas de las pérdidas embrionarias tempranas, son entre otras razones, la falta de reconocimiento de preñez por parte del útero por la incapacidad del embrión para evitar la regresión del cuerpo lúteo (Hernández, 2000). Si no se produce este reconocimiento se produce una degeneración o lisis del cuerpo lúteo, a causa de la acción luteolítica de la prostaglandina  $\text{PGF}_{2\alpha}$  que proviene del útero. Consecuentemente las ondas foliculares continúan con su dinámica dándonos a término una nueva ovulación (Hafez, 1996).

Una consideración importante para establecer causas y efectos de mortalidad embrionaria es determinar si la muerte embrionaria es anterior o posterior a la regresión del cuerpo lúteo. Si tiene lugar la fertilización, el desarrollo del embrión impide la aparición del celo ya que inhibe la producción y liberación de la prostaglandina endógena, Si el embrión muere antes de que la madre "reconozca" la presencia de la gestación se conoce como muerte embrionaria temprana. Es la más común en todas las especies. En bovinos, la muerte embrionaria temprana se da antes del día 13-15, en este caso la vaca volverá al ciclo estral con un intervalo entre celos prácticamente normal (21 a 24 días), si el embrión muere luego de éste momento después del reconocimiento materno de la gestación el intervalo entre celos se alargará más allá de las cifras generalmente aceptadas (18 a 24 días) y se considera muerte Embrionaria tardía.



La mayoría de las fallas reproductivas ocurren durante el periodo embrionario de la gestación alrededor de los 45 días, en los primeros días después de la fecundación y durante el proceso de implantación. Las muertes entre los 8 y 16 días representan un 70 a 80 % del total de pérdidas y sin efecto sobre la duración del ciclo estral. La muerte embrionaria tardía, hasta el día 42 (comienzo organogénesis) representa un 10%  $\pm$  5% con alargamiento del ciclo estral (Catena, 2014).

La progesterona (P4) producida por el cuerpo lúteo (CL) al inicio de la gestación cumple funciones importantes: inhibición del comportamiento sexual, mantenimiento de la preñez por ausencia de las contracciones uterinas, promoción del desarrollo glandular en el endometrio y promueve el desarrollo alveolar de las glándulas mamarias. La hormona esteroidea P4 desempeña un importante papel en la regulación materno embrionaria, es decir sobre el crecimiento y desarrollo del embrión en la preñez temprana del ganado (Garrett *et al.*, 1988).

Como la hormona de la preñez, la progesterona estimula y mantiene las funciones necesarias para el crecimiento del endometrio producto de la concepción, la implantación, placentación y desarrollo a término (Spencer *et al.*, 2002; Spencer *et al.*, 2004). En el ganado vacuno, el establecimiento exitoso de la gestación y rápido desarrollo del blastocito se correlaciona con el aumento de la progesterona (Spencer *et al.*, 2006).

Está claro que la concentración de P4 plasmático tiene un efecto sobre el desarrollo del embrión y este efecto es probablemente el resultado de la expresión génica en los tejidos del útero (Clemente *et al.*, 2009).

En este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

### **Objetivo general:**

Mejorar la tasa de preñez después de la realización de IATF en vacas mestizas tipo carne.



**Objetivo específico:**

1. Determinar el efecto de la aplicación de progesterona en dosis de 75 o 100 IM en el día tres post IATF sobre la tasa de preñez temprana en relación con vacas sin esta suplementación.



## CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Endocrinología del ciclo estral.

El desempeño reproductivo es el principal componente de la eficiencia productiva en las explotaciones ganaderas de leche, y uno de los factores que afectan la eficiencia reproductiva es el intervalo entre partos, el cual está directamente influenciado por el anestro post parto. Una nutrición adecuada es esencial para la recuperación de la actividad ovárica luego del parto, cuando el consumo de nutrientes es inadecuado y las reservas corporales están disminuidas, el intervalo parto primer estro se extiende. Todo lo anterior ha llevado a recurrir a técnicas que permitan sincronizar el estro (calor) y la ovulación, para asegurar que la inseminación coincida con esta última (Pareja, 2007).

El ciclo estral en la hembra bovina tiene una duración promedio de 21 días, pudiendo presentarse en un rango de 17 y 25 días, se presenta a lo largo del año, por lo que se conoce como poliéstrica continua Callejas, (2001).

El ciclo estral se puede dividir en tres fases:

1. Fase Folicular o de regresión del cuerpo lúteo (Proestro)
2. Fase Periovulatoria (Estro y Metaestro)
3. Fase Luteal (Diestro)

El cambio endocrino ocurrido durante el ciclo estral compromete la interacción entre las hormonas relacionadas con el hipotálamo y pituitaria anterior, ovario y útero. Cada ciclo puede estar claramente dividido en una fase luteal y en una fase folicular, cada fase tiene un desarrollo que procede al principal período funcional. La fase folicular comienza con el proestro la cual procede al estro y a la ovulación, la fase luteal abarca el metaestro seguido por el proestro. La fase folicular es finalizada cerca de la ovulación, y la fase del diestro cerca de la fase luteólisis (J. L. Ortega Sánchez \*, 2011)



### 2.1.1. Fase Folicular o de Regresión Lútea

Este período, cuya duración es de 3 días, comienza con la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior y finaliza con la manifestación del celo. Al producirse la destrucción del cuerpo lúteo tenemos una caída en los niveles de progesterona y posteriormente una pérdida de tejido luteal, siendo la PGF2 alfa de origen uterino el principal lúteolítico en los animales domésticos y en la mayoría de los roedores. Como consecuencia de la caída de los niveles de progesterona, disminuye el feed back negativo que dicha hormona tenía a nivel hipotalámico y comienzan a aumentar la frecuencia pulsátil de las hormonas gonadotrofinas (FSH y LH) y se estimula el crecimiento folicular con el desarrollo de un gran folículo y el aumento en los niveles de estradiol. Cuando los estrógenos alcanzan cierto nivel, se estimula la receptividad al macho y comienza el período de celo o estro. (Callejas, S, 2005).

### 2.1.2. Fase Periovulatoria

Esta fase comienza con la receptividad al macho (se deja montar por vacas y toros), e involucra todos los cambios que permiten la ovulación y comienzo de la formación del cuerpo lúteo. Durante el estro, cuya duración es de  $18 \pm 6$  horas, la vaca manifiesta inquietud, ansiedad, brama con frecuencia y pierde el apetito; en el caso de las vacas lecheras, se resiente su producción. Las vacas presentan descarga de mucus con mínima viscosidad (filante), cuyo olor atrae y excita al toro (presencia de feromonas), edema de vulva y en el útero se produce un aumento del tono miometrial, detectado fácilmente por palpación transrectal. Durante esta fase, los estrógenos en altas concentraciones alcanzan el umbral de estimulación del centro cíclico hipotalámico, estimulando a las neuronas hipotalámicas a producir el pico de GnRH y en consecuencia el pico de LH (Callejas, S, 2005).



Con respecto a la FSH, disminuye su secreción, consecuencia del feed back negativo iatrogénico y de la inhibina, con excepción del momento en que se produce el pico preovulatorio de LH, en que puede aparecer un pico de FSH. Posteriormente, 4 a 12 horas después de la onda de LH, se incrementan la concentración basal y la amplitud de los pulsos de FSH, relacionándose esto con la primera onda de crecimiento folicular. Luego de 12 a 24 horas de comenzado el celo, el sistema nervioso de la vaca se torna refractario al estradiol y cesan todas las manifestaciones psíquicas del mismo. El período inmediato a la finalización del celo, es el metaestro (6 días). En este período ocurre la ovulación de la vaca, a diferencia de las otras especies que lo hacen durante el celo, y comienza la organización celular y desarrollo del cuerpo lúteo. La ovulación ocurre 28 a 32 horas de iniciado el celo y es desencadenada por el pico preovulatorio de LH. A la ovulación sigue hemorragia profunda y el folículo se llena de sangre convirtiéndose en cuerpo hemorrágico. En la formación del cuerpo lúteo (luteinización) se producen una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que permiten que las células foliculares se transformen en 7 células luteales, cambios que finalizan al séptimo día con un cuerpo lúteo funcional (J. L. Ortega Sánchez, 2011)

### **2.1.3. Fase Luteal.**

Esta fase se caracteriza por el dominio del cuerpo lúteo. El mantenimiento del cuerpo lúteo, así como la síntesis de progesterona está ligada a la hormona LH que es progesterotrófica y luteotrófica. Otras hormonas que intervendrían en la síntesis de progesterona, son la FSH y la PGI2 alfa. La FSH se uniría a receptores ubicados en el cuerpo lúteo y provocaría un aumento en la secreción de progesterona. En lo referente a la PGI2 alfa además de estimular a las células luteales para producir progesterona, aumentaría el flujo sanguíneo a nivel ovárico con el efecto positivo que esto significa sobre la síntesis y secreción de progesterona.



Si el ovocito no es fecundado, el cuerpo lúteo permanece funcional hasta el día 15- 20, después del cual comienza la regresión del cuerpo lúteo y la preparación para un nuevo ciclo estral (Callejas, S, 2005).

#### **2.1.4. Hipotálamo.**

El hipotálamo ocupa solo una pequeña parte del cerebro. Esta consiste en una región del tercer ventrículo, que se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares. El hipotálamo es asiento de varios núcleos de neuronas que establecen relaciones de integración entre las actividades somáticas y viscerales del cuerpo, y conectan respuestas ante estímulos provenientes del ambiente. En los mamíferos, incluido el hombre, todas las funciones orgánicas están influidas directa o indirectamente por el hipotálamo (Hafez & Hafez 2002).

Las hormonas hipotalámicas son las siguientes: hormona liberadora de corticotropina CRH, hormona liberadora de tirotropina TRH, hormona liberadora de gonadotropina GnRH, hormona liberadora de prolactina PIH, somatostatina y hormona liberadora de la hormona del crecimiento GRH (Illera, 1994).

#### **2.1.5. Hipófisis**

Consta de una parte anterior y otra posterior. La hipófisis anterior o La adenohipófisis tiene la propiedad de producir hormona liberadora de corticotropina CRH, hormona liberadora de tirotropina TRH, hormona liberadora de prolactina PIH, hormona liberadora de la somatostatina GRH (Illera, 1994) y la hormona liberadora de Gonadotropina GnRH, de las cuales la hormona FSH y LH cumplen un papel relevante en el control neuroendocrino del ciclo estral; La FSH es la responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular y la LH interviene en el proceso de esteroidogénesis ovárica, ovulación, formación del CL y mantenimiento del mismo (Rippe, 2009).

La neurohipófisis almacena la oxitocina producida en el hipotálamo (Hafez, 1996). Esta hormona tiene varias funciones entre ellas la regulación del mecanismo del parto (Bazer y first, 1983), de la bajada de leche (Tucker, 1994) y del proceso de luteólisis (Bazer, 1992).



## 2.4. Ovarios

Los ovarios son glándulas que tienen dos funciones: una exocrina, que es la liberación de óvulos, y otra endocrina, que es la producción y secreción de hormonas. Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar los estrógenos, la progesterona, la activina, la inhibina y prostaglandinas. Los estrógenos son hormonas esteroideas producidas en el folículo y son los responsables de estimular la conducta sexual o de celo actuando sobre el sistema nervioso central del animal; además, tienen acción sobre otros órganos del aparato reproductor como son los cuernos uterinos, el útero, la vagina y la vulva (Rippe, 2009).

### 2.1.6.1. Cuerpo lúteo

Es una estructura endocrina de color amarillo que aparece como resultado de la ovulación de un folículo. La LH es la principal hormona responsable de los cambios celulares dentro del folículo, para que este sea transformado en un cuerpo lúteo (CL). La principal función del CL, es la producción de P4, hormona que participa en el mantenimiento de una eventual gestación. En el caso que la vaca no quede gestante, el CL deberá sufrir luteólisis funcional y estructural, para iniciar un nuevo ciclo estral; La P4 es una hormona de naturaleza esteroidea, llamada así porque su principal precursor es el colesterol. En el ovario, es sintetizada principalmente en las células de la teca interna mediante diferentes reacciones enzimáticas, para posteriormente ser transportada a las células de la granulosa, donde por medio de una enzima llamada aromatasa, es biotransformada a E<sub>2</sub> (Lenis *et al.*, 2014).

### 2.1.7 Útero

Hafez & Hafez, (2002) describen que el útero consta de dos cuernos uterinos y un cuerpo, tiene un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente. Ambos lados del útero están unidos a las paredes pélvicas y abdominales por el ligamento ancho.

Como órgano hueco, consta de tres capas: mucosa o endometrio, muscular o miometrio y serosa o perimetrio. Es el componente fundamental del aparato genital femenino que tiene como función el asentamiento e implantación del óvulo en caso de ser fecundado, así como el desarrollo de la placenta y el feto. (Gázquez & Rodríguez, 2004).

## **2.2. Fisiología del ciclo estral de la vaca**

### **2.2.1. Fases del Ciclo Estral**

El ciclo estral se divide en 4 etapas y es el tiempo que ocurre entre dos periodos estrales, también llamado celo o calor, y varía normalmente entre 17 a 24 días, considerándose 21 días como el tiempo promedio. Ciclos estrales inferiores a este tiempo se consideran anormales mientras que los más largos probablemente se deba a una falla en la detección de calores (Duby & Prange, 2004, citado por Rippe, 2009).

#### **2.2.1.1. Estro**

Esta fase se caracteriza por la receptividad de la hembra al macho, tiene una duración de 2 a 24 horas, la vaca manifiesta inquietud, ansiedad, brama con frecuencia y pierde el apetito. (McDonald, 1978; Luque *et al.*, 1983, Holy, 1983., Bonafos y Ginther, 1995; Hafez 1996; citado por Rutllant *et al.*, 1997.) En esta etapa, los estrógenos en altas concentraciones provocan un pico de GnRH y en consecuencia el pico preovulatorio de LH (Kesner *et al.*, 1981 citado por Fink 1988).

#### **2.2.1.2. Metaestro.**

Esta etapa dura de 4 a 5 días y es cuando comienza la formación del cuerpo hemorrágico que posteriormente dará origen al CL, este secretará P4. En esta etapa se presenta también la primera oleada folicular, que dará origen a un folículo dominante y a varios subordinados (Alarcón & Galina, 2009).





### 2.2.1.3. Diestro.

Esta fase se caracteriza por el predominio del CL. La LH interviene en el desarrollo y mantenimiento del mismo (Peters *et al.*, 1994 citado por Vizcarra *et al.*, 1997). Su secreción pulsátil es necesaria para mantener los niveles de P4 en los primeros 12 días del ciclo estral (Peters *et al.*, 1994). Posteriormente dicha secreción pulsátil no sería necesaria y sería regulada por bajas concentraciones de LH o por mecanismos independientes de dicha hormona (Wiltbank, 1994).

### 2.2.1.4. Proestro.

Este periodo dura 3 días, comienza con la regresión del CL del ciclo anterior y finaliza con la manifestación del celo. En el momento de la regresión luteal se produce una rápida disminución en el peso del CL en el contenido de ADN y en el tamaño de las células (Zheng *et al.*, 1994).

### 2.2.2. Dinámica folicular.

Del Valle, (2008) define la dinámica folicular como el proceso continuo de crecimiento y desarrollo de folículos antrales, que conlleva al desarrollo del folículo pre-ovulatorio. Cada onda de desarrollo folicular involucra las siguientes fases sucesivas: La de reclutamiento, selección y dominancia.

De la misma forma (Tovio N, 2012) describe la dinámica folicular, tal como describe a continuación:

1. **Reclutamiento:** las ondas foliculares se ven precedidas de un pequeño pico de FSH, todos los folículos que crecen como cohorte contienen receptores específicos para la FSH y dependen de esta gonadotropina para crecer. En esta etapa, los folículos en crecimiento no disponen de un número suficiente de receptores de LH para responder a una estimulación de tipo LH, razón por la cual esta fase del crecimiento recibe a veces el nombre de FSH dependiente.
2. **Selección:** por razones que todavía no se comprenden en su totalidad, sólo es seleccionado un folículo dominante de la cohorte reclutada por el pequeño pico de FSH. Una característica definitoria del folículo dominante

parece ser su mayor capacidad para la producción de estradiol. Este adquiere receptores de LH que permiten que siga creciendo en el entorno con niveles bajos de FSH y crecientes de LH (Ginther *et al.*, 2000).

3. **Dominancia:** tras su selección, el crecimiento, la actividad estrogénica y el plazo de vida de un folículo dominante son controlados por el patrón de pulsos de la LH. Así, cualquier cambio en el patrón de secreción de la GnRH y, por tanto, en el de la LH, tendrá un marcado efecto sobre el crecimiento continuo del folículo dominante y su ovulación. Ahora se sabe que la mayor frecuencia de los pulsos de LH vistos tras los tratamientos con progestágenos, por ejemplo, prolongarán el periodo de dominancia de este folículo de 2-7 días hasta más de 14 días, lo que afecta a la fertilidad del ovocito (Diskin *et al.*, 2002).

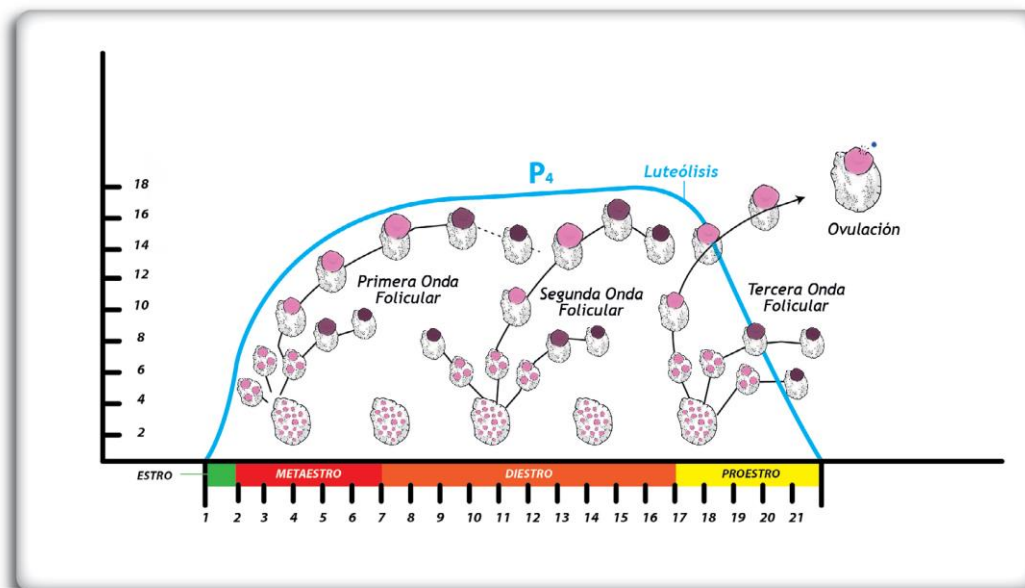


Figura 1. Representación esquemática de la dinámica folicular del ciclo estral de la vaca (Lenis *et al.*, 2014).

### 2.3. Hormonas de la reproducción.

Se derivan primordialmente de cuatro sistemas u órganos principales: varias áreas del hipotálamo, lóbulo anterior y posterior de la hipófisis, gónadas (testículo y ovario, incluido su tejido intersticial y CL), útero y placenta (Hafez & Hafez 2002).

#### 2.3.1. Estructura de las hormonas.

El mismo autor hace referencia que las hormonas reproductivas se agrupan según su estructura bioquímica, en glucoproteínas, polipéptidos, esteroides, ácidos grasos y aminas y de acuerdo su estructura química se dividen en:

**Proteínas**, hormonas polipeptídicas con un peso molecular de 300 a 70.000 daltons, como la oxitocina, FSH y LH.

**Esteroides**, derivados del colesterol con un peso molecular de 300 a 400 daltons, por ejemplo, testosterona, estrógeno y P4.

**Ácidos grasos**, derivados del ácido araquidónico, con un peso molecular alrededor 400 daltons, por ejemplo,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

**Aminas**, derivados de tirosina o triptófano, como por ejemplo, la melatonina.

#### 2.3.2. Hormonas hipotalámicas.

Para Ramírez (2006)<sup>a</sup>, las hormonas hipotalámicas se denominan: **liberadoras**, en la medida en que su presencia estimula la liberación o secreción de las hormonas producidas por el tejido glandular de la hipófisis, y en **Inhibidoras**, en la medida en que su acción es inhibir o impedir la liberación de determinadas hormonas hipofisarias.

El mismo autor señala que las hormonas hipotalámicas identificadas son: CRH: liberadora de adrenocorticotrofina, TRH: liberadora de tirotrófina, GnRH: liberadora de gonadotrofinas, STH-RH: liberadora de somatotrofina, Somatostatina: inhibidora de la somatotrofina, Dopamina: inhibidora de la prolactina y MIH: inhibidora de la hormona estimulante de los melanocitos. Algunas de esas hormonas hipotalámicas también son secretadas por otras zonas del encéfalo u otros tejidos del cuerpo.



Debido al enorme mercado potencial para los tratamientos hormonales y las ventajas económicas de su aplicación, la industria farmacológica además del decapeptido natural ha desarrollado diversos análogos y agonistas (producidos artificialmente) de diversa potencia, como la buserelina sintética. La buserelina es 17 veces más potente que la GnRH natural debido a su menor tasa de degradación y mayor vida media (mayor duración en circulación). Otro agonista de la GnRH, el fertirelin se obtiene por substitución de aminoácidos en las posiciones tres, seis y nueve (Gutiérrez *et al.*, 2005).

### **2.3.3. Hormonas Adenohipofisarias.**

Las gonadotropinas FSH y LH también denominada luteotropina, son glucoproteínas que se sintetizan y liberan en las células cianófilas del lóbulo anterior de la hipófisis, bajo la influencia de la GnRH. La acción de las gonadotropinas se ejerce, como se desprende de su nombre a nivel de las gónadas estrógeno y P4 en la hembra, testosterona en el macho (Illera, 1994).

La secreción basal de FSH y LH es pulsátil, siendo interrumpida por un pico masivo de LH durante el estro, el cual es disparado por un pico de GnRH, ocasionado por la mayor liberación de E<sub>2</sub> durante el proestro *feedback* positivo (Gutiérrez, 2008).

Los agentes opiáceos exógenos causan disminución, tanto de la frecuencia como de los niveles o de los picos de secreción de LH. Este hecho puede tener importancia cuando se relaciona con el estrés y con la consecuente secreción de opioides endógenos; por ejemplo, durante los primeros días postparto por efecto del amamantamiento sobre la inhibición de la función reproductiva (Williams *et al.*, 1996).

#### **2.3.3.1. Hormona folículoestimulante.**

Estimula el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos y la secreción de la hormona femenina denominada estrógenos, permitiendo la aparición del celo en las hembras. En los machos estimula la formación de espermatozoides por los testículos (Ramírez, 2006).



### **2.3.3.2. Hormona luteinizante**

Illera, (1994) refiere a esta hormona por ser la responsable de la transformación de los folículos preovulatorios en verdaderos cuerpo lúteos. Estimula a las células de la teca del ovario para que produzcan precursores estrogénicos, al comienzo de la fase folicular, cuando las células de la granulosa solamente poseen receptores para FSH y no responden aún a la LH. Mediante la acción conjunta de la FSH y los estrógenos, las células de la granulosa adquieren receptores LH, que responden a la estimulación de la hormona luteinizante. Después de la ovulación, las células lúteas secretan P4, en respuesta al estímulo de la LH.

En el macho, la LH estimula a las células intersticiales de Leyding para que produzcan testosterona, esta hormona interviene en la espermatogénesis y mantiene el aparato reproductor y las características sexuales secundarias del macho (Illera, 1994).

### **2.3.4. Hormonas esteroides gonadales.**

Los ovarios y los testículos secretan primordialmente hormonas esteroides gonadales. También los órganos no gonadales como las glándulas suprarrenales y la placenta secretan hormonas esteroides en cierta medida. Estas son de 4 tipos: andrógenos, estrógenos, progestinas y relaxina. Los tres primeros tipos son esteroides mientras que el cuarto es una proteína. Los ovarios producen dos hormonas esteroides: estradiol y progesterona y una hormona proteica, la relaxina, los testículos secretan una sola hormona, la testosterona (Hafez & Hafez 2002).

#### **2.3.4.1. Estrógenos.**

Los estrógenos son hormonas esteroideas, producidas por el folículo ovárico cuya síntesis se explica de la siguiente manera: La Hormona Luteinizante hipofisaria (LH) interacciona con su receptor ubicado en las células de la teca interna y produce andrógenos; estos pasan a través de la membrana basal y entran en las células granulosas. En estas actúa la Hormona Folículo estimulante hipofisaria (FSH), quien estimula una enzima aromatasa que transforma a los andrógenos en

estrógenos, los cuales pasan al líquido folicular y a la circulación general. Posteriormente llegan a su blanco y ejercen su acción mediante el modelo de receptor móvil o intracelular. Los estrógenos tienen acciones sobre distintos órganos blanco, como los cuernos uterinos, el útero, la vagina, la vulva y el sistema nervioso central. A nivel uterino, actúan como hormonas tróficas provocando la proliferación de células y glándulas endometriales; las que aumentan su secreción (Bo, G, 2002).

#### 2.3.4.2. Progesterona.

La P4 es producida en el CL del ciclo o de la gestación, aunque en algunas especies, se produce también en la placenta y en las glándulas adrenales. Su acción es mantener la gestación en las hembras preñadas. En una vaca cíclica, su acción principal es regular la duración del ciclo gracias a su efecto inhibitor del celo y de la ovulación. La P4 natural tiene una vida media muy corta, apenas entre 3-4 minutos (Gutiérrez, 2008).

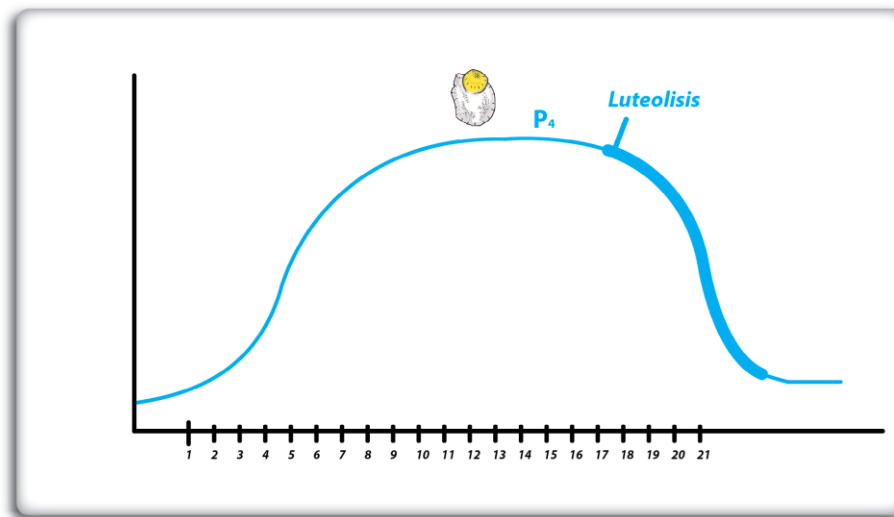


Figura 2. Dinámica de la Progesterona durante el ciclo estral de la vaca (Lenis *et al*, 2014).

Hafez & Hafez, (2002) describen las siguientes funciones:

- Prepara el endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretorias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio.
- Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral.
- En concentraciones altas, inhibe el estro y la oleada ovulatoria de LH.
- Bearden & Fuquay (1982), agrega que la P4 mantiene la preñez por inhibición de las contracciones uterinas y promoción del desarrollo glandular en el endometrio y promover el desarrollo alveolar de las glándulas mamarias. Además, agrega que tiene acciones sinérgicas con los estrógenos y los progestágenos en la preparación del útero para la preñez y las glándulas mamarias para la lactancia.

Un nivel adecuado de P4 lútea es crucial para determinar la duración del ciclo estral y para lograr una gestación exitosa. El CL se regula no sólo por la gonadotropina hipofisaria, sino también por un número de citoquinas que se producen localmente. Un factor de necrosis tumoral (TNF) y sus receptores específicos (TNFR) están presentes en el CL de muchas especies. Este desempeña múltiples y probablemente importantes roles en función de CL a través del ciclo estral. TNF parece tener papeles luteotrópico y luteolíticos en el CL (Okuda *et al.*, 2003).

El CL regula la síntesis de P4 que, a su vez, apoya su propia síntesis; y que afecta a la transcripción de genes que codifican enzimas esteroideogénicas; las altas concentraciones de P4 en las células lúteas protegen contra la apoptosis, mientras que la interrupción o deterioro de la esteroideogénesis disminuye la capacidad de la producción de P4 y de la muerte inducida por células lúteas Rekawiecki *et al.*, (2006).



La circulación y concentración de P4 está determinada por un equilibrio entre la producción de P4, por el cuerpo lúteo, y el metabolismo P4, principalmente en el hígado. El volumen de tejido luteal, el número y la función de células grandes lúteas son factores primarios que determinan la producción de P4. La tasa de metabolismo del mismo se determina generalmente por el flujo sanguíneo del hígado y puede ser de importancia crítica en la determinación de las concentraciones circulantes de P4 Wiltbank *et al.*, (2014).

Las concentraciones circulantes de P4 durante principios de celo, pueden ser elevadas en el ganado por:

- La inducción de un cuerpo lúteo accesorio, después de la ovulación del folículo dominante de la primera ola, en respuesta a las inyecciones de GnRH, LH o hCG.
- Una mayor área de tejido luteal en respuesta al tratamiento hCG 2 o 5 días después del estro
- La administración de suplementos de P4 exógeno (Pugliesi *et al.*, 2013).

Clemente *et al.*, (2009), indica que en muchos estudios informan una asociación positiva entre las concentraciones de progesterona y la probabilidad de supervivencia de los embriones. Los mecanismos propuestos por el cual la progesterona afecta la supervivencia embrionaria son indirectos, no actúa sobre el embrión mismo, pero si a través de los efectos sobre el endometrio uterino.

Se ha identificado que el aumento de las concentraciones de progesterona durante la fase lútea del ciclo estral, altera el patrón de expresión de genes en el útero, que a su vez altera la composición de la histotrofina uterina, es decir, disponibilidad de enzimas, proteínas portadoras, hormonas y nutrientes al embrión en desarrollo antes de la implantación, Este es un interruptor crítico en lo que permite el aumento o disminución sincrónica de genes del endometrio que se requieren para iniciar la receptividad uterina, independientemente del estado de gestación de los animales. Por otra parte, se ha demostrado que las alteraciones





en la progesterona sistémica durante la fase lútea temprana tienen efectos significativos en el alargamiento del conceptus (Clemente *et al.*, 2009); Si, por el día 16 del ciclo estral, el reconocimiento materno da la señal de gestación y no se ha detectado en cantidades suficientes el interferón tau, la regresión del CL se produce. La PGF es secretada por el útero en el bovino y consecuentemente se produce una destrucción del cuerpo lúteo (Crowe *et al.*, 2013).

La secreción de la progesterona luteínica es esencial para la gestación exitosa, para la ovulación de un oocito sano, el mantenimiento de la atonía uterina, la alimentación y la supervivencia del embrión, feto, y el parto normal (Inskeep, 2002).

Durante la fase lútea anterior e inmediatamente después del estro en vacas no preñadas, la progesterona regula el establecimiento y el momento de los mecanismos de la regresión lútea. Por los mismos mecanismos, la progesterona prepara el útero para el reconocimiento de la preñez. Además, las concentraciones de progesterona regulan el desarrollo folicular por el control de retroalimentación negativa de la frecuencia de impulsos de la secreción de LH (Inskeep, 2004).

#### **2.3.4.2.1. La Progesterona en el desarrollo temprano del embrión.**

Elevados niveles de P4 después de la IA puede afectar positivamente el desarrollo embrionario y también pueden elevar la fertilidad Wiltbank *et al.*, (2014).

(Diskin *et al.*, 2008) menciona que el desarrollo embrionario está influenciado por los niveles de P4 producidos por el CL que controlan el ambiente del oviducto y del útero. La secreción de progesterona por parte del CL estimula la actividad secretora de las glándulas endometriales que producen sustancias encargadas de mantener el embrión hasta que se formen los placentomas. Estas secreciones, denominadas vulgarmente "leche uterina", son absorbidas por el blastocisto y el



saco vitelino siendo utilizadas como nutrientes durante la etapa previa a la formación del corioalantoides.

En efecto bajas concentraciones de P4 uterino-circulante, se han implicado como un factor causal en la baja las tasas de preñez observados en vacas lecheras de alto rendimiento (Diskin *et al.*, 2008).

(Mann *et al.*, 2001) menciona, que concentraciones bajas de P4 circulante entre los días 3-8 post-ovulación se asocia con embriones más pequeños en el día 16, y, en consecuencia, pueden resultar en una dosis baja de interferón-tau para bloquear el proceso luteolítico y para mantener la gestación. El aumento de las concentraciones de P4 dentro de la primera semana después de la concepción están asociados con expresión génica alterada en el endometrio (Forde *et al.*, 2009), lo que conduce al avance en el alargamiento conceptus y aumento de la secreción de interferón-tau (Pugliesi *et al.*, 2013).

### 2.3.5 Prostaglandina.

Estructuralmente es un ácido graso insaturado compuesto por 20 átomos de carbono. Contiene un anillo ciclopentano y dos cadenas laterales. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se produce en el endometrio, siendo transportada por un mecanismo de contracorriente desde la vena uterina hasta la arteria ovárica, ejerciendo su acción específica o luteólisis sobre el CL del ovario. También provoca contracciones uterinas favoreciendo el transporte de espermatozoides y el parto (Gutiérrez, 2008).

Se han producido análogos de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  natural o análogos sintéticos (tiaprost, cloprostenol, fenprostaleno), responsables de inducir la luteólisis hacia el final del diestro o durante la gestación (Adams, 2001). El cloprostenol es un análogo sintético de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  que posee isomería óptica D y L, de los cuales, el isómero D es 3 a 4 veces más potente que el L porque tiene mayor afinidad por el receptor; provoca una rápida regresión del CL, al mismo tiempo que estimula la musculatura uterina y la relajación del cérvix. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  también se comercializa como sal de

trometamina (Dinoprost). La única actividad útil que desarrolla la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  o sus análogos es la de inducir una luteólisis prematura y en consecuencia, una caída de los niveles de P4; al desaparecer el feed back negativo se reanuda una secuencia de eventos hormonales y ováricos que deben culminar en un celo ovulatorio.

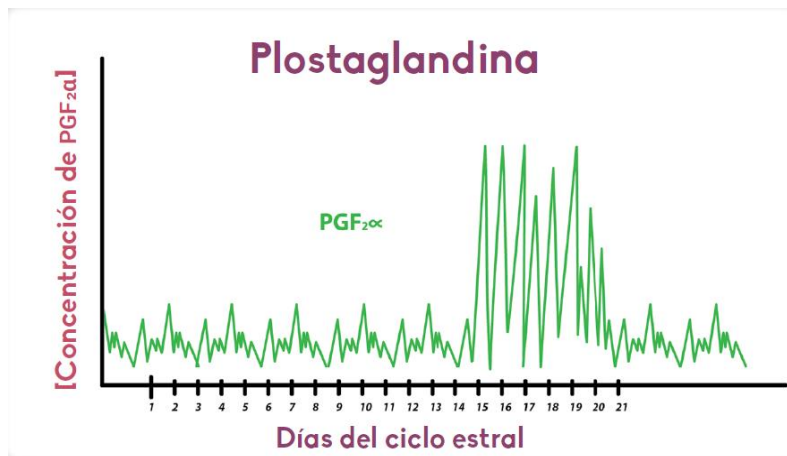


Figura 3. Dinámica de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  durante el ciclo estral de la vaca (Lenis *et al*, 2014).

#### 2.4. Sincronización del celo y ovulación.

La evolución de los métodos para el control del ciclo estral en la vaca, puede ser ordenado en 5 fases distintas. La primera comprende en investigaciones con el sentido de prolongar la fase lútea a través de la administración de P4 exógena. Con el tiempo estos métodos pasaron a contar con una asociación de estrógenos y gonadotropinas. La tercera fase está caracterizada por la utilización de prostaglandinas con el fin de acortar la fase lútea, la cuarta fase sería aquella en la que fueron desarrollados los métodos con la asociación de progestágenos y prostaglandinas. La denominada quinta fase surgió por estudios más recientes de las ondas foliculares que mostraron que el control del ciclo estral en la vaca



requiere la manipulación no solo de la fase lútea sino también del crecimiento folicular Patterson et al (2000), tomado de Becaluba (2006).

#### **2.4.1. Utilización de dispositivos de liberación de progesterona.**

La utilización de dispositivos intravaginales para la administración de progestágenos representa un método sencillo y efectivo. La hormona presente en estos dispositivos es liberada en forma lenta y progresiva siendo absorbida por los tejidos adyacentes, pasando al torrente circulatorio y bloqueando el estro y la ovulación (Soto, 2001).

Estos productos actúan como un cuerpo lúteo exógeno, que igualmente inhibe la secreción de gonadotropinas y por lo tanto, el desarrollo folicular. Al retirar los tratamientos, cesa el bloqueo que ejerce la progesterona sobre el hipotálamo, desencadenando la liberación de gonadotropinas y el inicio de un ciclo normal, ovulatorio y potencialmente fértil; la respuesta es válida, incluso en etapas tempranas del postparto lo que permite acortar los intervalos de anestro postparto en vacas doble propósito (Gutiérrez *et al.*, 2008), tanto en vacas multíparas como en las de primer parto.

Gutiérrez *et al.*, (2006) subraya que los tratamientos con progestágenos que incluyen estrógenos en el protocolo, permiten la sincronización de la ovulación y el establecimiento de la IATF, con tasas de preñez similares a las obtenidas con celo detectado. Esa respuesta permite prescindir de la detección del celo, que representa la principal limitante para el éxito de la IA.

#### **2.4.2. Protocolo con Gonadotropina Coriónica Equina.**

La hormona gonadotropina coriónica equina (eCG), se descubrió cuando la sangre de yeguas preñadas producía maduración sexual en ratas inmaduras. La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH, pero con un mayor contenido de carbohidratos especialmente ácido siálico (Hafez & Hafez 2002).

La eCG tiene acción de FSH en mayor grado y LH en menor grado. Estimula el crecimiento de los folículos gracias a su efecto FSH y ayuda, en menor medida, en el proceso de ovulación.

En protocolos para IATF se trabaja en una sola dosis, este producto está indicado cuando se trabaja con vacas con cría al pie, vacas y novillas en condición corporal comprometida y/o novillas que teniendo el peso y la edad aún no ciclan (Hafez & Hafez 2002).

La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de P4 dio como resultado un aumento en la concentración de P4 en plasma y en las tasas de preñez en vacas amamantadas tratadas durante el anestro posparto (Baruselli *et al.*, 2004).

Jiménez, (2014) señala que los protocolos de sincronización a tiempo fijo que combinan GnRH, P4, y prostaglandinas normalmente alcanzan resultados reproductivos óptimos, en casos de animales comprometidos metabólicamente estos resultados pueden verse alterados. El impacto de factores externos (estrés por calor) o momentos fisiológicos concretos, como pueden ser el posparto temprano, una nutrición deficiente, una baja condición corporal, el anestro o incluso su uso en vacas primíparas, pueden reducir drásticamente las tasas de preñez de estos animales sincronizados. Es en este tipo de situaciones donde la administración de eCG ha cobrado especial importancia a nivel de explotación.

En resumen, el autor destaca que la eCG se utiliza en medicina bovina para mejorar la actividad reproductiva de los animales, ya que debido a sus propiedades se ha comprobado que:

- Mejora la eficiencia reproductiva aplicada en etapas de posparto temprano. En un estudio reciente, administrada a día 6 posparto permitió reducir en 26 los días abiertos (de 130 a 124).
- Aumenta las tasas de ovulación y de preñez de vacas no cíclicas.
- Usada como parte de los protocolos de sincronización para inseminación a tiempo fijo mejora la tasa de concepción en vacas con retraso en la ovulación y mejora el desarrollo y la supervivencia embrionaria.



- Se puede utilizar en protocolos de sincronización para receptoras de embriones mejorando los resultados de la técnica.
- Administrada días después de la ovulación actúa sobre las células luteales grandes, lo cual se traduce en un aumento de los niveles de progesterona durante la fase luteal tras la inseminación. Esto se traduce en un mayor bienestar embrionario en caso de quedar gestante el animal, pudiendo reducir las pérdidas embrionarias tempranas.

#### **2.4.3. Regulación de la progesterona, síntesis y acción en el cuerpo lúteo.**

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria formada por las células secretoras del folículo tras la ovulación. La función principal de CL es la producción de P4, que regula diversas funciones de la reproducción, juega un papel clave en la regulación de la duración del ciclo estral y en la implantación del blastocisto. El aumento preovulatorio de LH es crucial para la luteinización folicular de células y el mantenimiento del CL, sin embargo, el CL es menos dependiente de la estimulación de la LH durante la fase lútea temprana. Desde el principio, el CL requiere el apoyo luteotrópico para su crecimiento y desarrollo, los otros factores apoyan la función de la LH para mantener el desarrollo y funcionamiento del CL. De hecho, se constató que, las prostaglandinas I<sub>2</sub> y E<sub>2</sub>, la oxitocina, noradrenalina y los factores de crecimiento estimulan de manera eficiente la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo temprano temprano bovino. (Niswender *et al.*, 2000, Rekawiecki, 2008, citado por Castañeda, 2011).

#### **2.4.4. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo**

El colesterol, que puede obtenerse de la dieta o ser sintetizado y transportado a los ovarios las lipoproteínas (HDL y LDL) es un precursor de la síntesis de esteroides. La P4, entre otras hormonas esteroides es el regulador fisiológico más importante implicado en la vida del CL y la implantación del blastocisto. La esteroidogénesis ovárica está regulada por varios factores que juegan el papel de modulador durante el ciclo estral (Rekawiecki, 2008).



Castañeda (2011) indica que el primer paso de la esteroidogénesis se produce en la mitocondria. La proteína que es la máxima responsable del transporte de colesterol desde el exterior al interior de la membrana mitocondrial es la proteína esteroidogénica reguladora aguda (StAR). Esta es sintetizada como una proteína de 37 kDa como precursor y procesado a 30 kDa como proteína madura después de cruzar la membrana mitocondrial. La interacción de StAR con el exterior de la membrana mitocondrial resulta en un cambio conformacional de proteínas y crea una StAR's vinculante al colesterol. Además de STAR, periféricas y de los receptores de la benzodiazepina, el ligando natural de este receptor también parece estar involucrado en la regulación de la tasa de transporte de colesterol.

El mismo autor agrega que la membrana interna mitocondrial está relacionada con el citocromo P450scc, que es el primer componente de la enzima compleja que se une a la cadena de colesterol para formar pregnenolona. Posteriormente, se convierte en pregnenolona por 3b-hidroxiesteroide deshidrogenasa / isomerasa (3b-HSD), asociado con el retículo endoplasmático liso. La LH es aceptada como el regulador más importante de la esteroidogénesis luteal, aunque este proceso también está regulado por otros factores luteotropicos. Los receptores de membrana de LH se encuentran principalmente en las células lúteas pequeñas. La unión de LH a su receptor, activa al cAMP-dependiente de la activación de la proteína kinasa A (PKA) y aumenta la producción de P4. La cantidad de receptores para LH varía en el curso del ciclo estral. Es bajo en los primeros y últimos días del ciclo estral y alto a mediados del ciclo. (Niswender, 2002, Cameron & Stouffer, 1982, Rekawiecki, 2008, citado por Castañeda, 2011).

#### **2.4.5. Regresión luteal.**

Cunningham, (2003) señala que la regresión del CL es importante en los grandes animales domésticos no gestantes para que puedan entrar de nuevo en un estado potencialmente fértil tan pronto como sea posible. La duración del CL después de la ovulación debe ser la suficiente como para permitir la síntesis y liberación, en una gestación incipiente y en desarrollo, de factores que permitan su



mantenimiento y sin embargo, lo bastante corta para que un animal no gestante pueda retornar lo antes posible a un estado fértil. En los grandes animales domésticos, la fase luteínica dura alrededor de 14 días en ausencia de gestación, lo que permite a estos animales completar ciclos a intervalos relativamente frecuentes.

La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  y la prostaglandina E se han utilizado como tratamiento clínico para inducir luteólisis en perras y leonas para tratar piómetras o para inducir abortos. En animales domésticos de gran tamaño, la regresión del CL se inicia gracias a la síntesis uterina y posterior liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  alrededor de 14 días después de la ovulación, cuyo paso del útero al ovario se piensa que se produce a través de una transferencia contracorriente a nivel local o mediante transferencia sistémica general. (Cunningham, 2003).

Se cree que el transporte de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , del útero hacia el CL, se hace desde las venas uterinas hacia la arteria ovárica por un mecanismo de contracorriente. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se libera en una serie de 5 a 8 pulsos, los cuales ocurren a intervalos de 6 a 8 horas y comienzan inmediatamente antes de la regresión luteal. (Convey & Hansel, 1983, Hernández *et al.*, 2008, citado por Castañeda, 2011).

La síntesis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , por el endometrio es máxima al momento de la luteólisis. Este proceso se inicia hacia el día 11-13 en el ovino y hacia el día 16-17 en el bovino, porcinos y equinos. La secreción de esta hormona se realiza en pulsos pequeños cuya intensidad va aumentando a medida que avanza el proceso luteolítico. El efecto de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sobre el CL es múltiple, sobre las células luteales grandes, la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  estimula la exocitosis de los gránulos citoplasmáticos que contienen grandes cantidades de oxitocina (Ox). Las células luteales sintetizan  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , posiblemente por estímulo de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  endometrial (Mann & Lamming, 2006, Hernández *et al.*, 2008, citado por Castañeda, 2011).





## 2.5. Fisiología de la gestación.

### 2.5.1 Gestación.

La mayoría de los mamíferos son vivíparos, por lo que el desarrollo embrionario y fetal se lleva a cabo en el útero. Este período de desarrollo uterino se denomina Gestación, en el tienen lugar diferentes cambios de adaptación del tracto reproductivo de la madre para el correspondiente mantenimiento nutricional y crecimiento del feto, así como la sincronización de los distintos mecanismos necesarios para que el feto llegue en buenas condiciones al parto (Rivera, 2012).

Del eyaculado depositado dentro del tracto reproductivo, solamente un pequeño grupo de espermatozoides capacitados alcanzan el ovocito después de pasar a través del “cumulus oophorus” formado principalmente por las células de la granulosa y ácido hialurónico. Este último paso se logra gracias a la motilidad hiperactivada adquirida durante la capacitación y por la acción de la proteína PH-20 localizada en la membrana plasmática del espermatozoide que posee un dominio con actividad hialuronidasa (Velásquez, 2004).

El espermatozoide tiene que atravesar las células del cúmulo ovígeno en desintegración, la corona radiada, las células de la zona pelúcida (ZP), el espacio perivitelino y membrana vitelina para llegar al ooplasma (citoplasma celular). Las células del cúmulo ovígeno y especialmente las de la corona radiada guían al espermatozoide hacia el óvulo. La acrosina producida en el acrosoma del espermatozoide hace una hendidura en la zona pelúcida para que penetre por espacio de 30 minutos (Schroeder, 1999).

Para los espermatozoides depositados en el tracto de la hembra, la ZP es la última barrera que deben atravesar para fertilizar al óvulo. En la penetración de la ZP interviene probablemente un mecanismo mecánico y otro enzimático. En el primero las fuerzas generadas por el movimiento hiperactivo ayudan al paso del espermatozoide a través de la ZP. En el segundo, las enzimas liberadas durante la reacción acrosomal (RA) hacen una abertura en la ZP, a través de la cual el espermatozoides pueden penetrar (Galina & Valencia, 2006).

### 2.5.2. Implantación.

La implantación embrionaria es un proceso complejo, que comprende una serie de etapas que comienzan con la fijación del blastocisto al útero y termina con la formación de la placenta definitiva. Para que la implantación tenga éxito, se requiere de una comunicación entre el embrión y el endometrio a través de una serie de señales moleculares y celulares que conllevan finalmente a una sincronía entre el desarrollo del embrión y una compleja serie de eventos inducidos en el útero por los estrógenos y la P4 (Peña *et al.*, 2007).

Las interacciones del embrión con el endometrio solo pueden iniciarse cuando el embrión y el endometrio han alcanzado un estado de madurez preciso, el embrión debe estar en la fase de blastocisto y en el endometrio y para que sea receptivo deben haber ocurrido cambios que dependen principalmente de hormonas. (Kennedy *et al.*, 2007).

El proceso de implantación del blastocisto en los mamíferos es muy variable, sobre todo en el grado de invasión del trofoblasto al endometrio. En algunas especies hay poca o ninguna invasión de células trofoblásticas en el endometrio, mientras que en otros la invasión es extensa. En aquellas especies con limitada, o poca invasión, el endometrio sufre pocos cambios en respuesta a la implantación. (Kennedy *et al.*, 2007).

El embrión bovino y ovino desarrolla vellosidades en forma de dedos (papilas) que se proyectan en el interior de la luz de las glándulas uterinas. Estas papilas proporcionan un ancla temporal y una estructura absorbente para el embrión mientras progresa una implantación más completa. La pérdida o la reducción de la altura de las microvellosidades de la superficie trofoblástica permiten un contacto cercano de la superficie con las microvellosidades del epitelio uterino. Este último se comprime hacia la superficie trofoblástica inter bloqueándose con las proyecciones citoplásmicas en la superficie del trofoblasto hasta que las microvellosidades del trofoblasto vuelven a desarrollarse, formando una adhesión más compleja (Spencer *et al.*, 2007).

### 2.5.3 Reconocimiento Materno Embrionario.

Lenis *et al.*, (2014) indica que este proceso constituye en uno de los eventos de mayor importancia en la reproducción, siendo el proceso fisiológico por cual un embrión, mediante señales moleculares, anuncia su presencia a su madre, con el fin que esta no inicie los procesos luteolíticos, que producirían muerte embrionaria temprana. Este proceso está regulado por múltiples señales celulares y endocrinas entre el embrión, el endometrio y el CL.

El embrión debe sintetizar una sustancia que sea capaz de bloquear la luteólisis y de modificar el ambiente endometrial, con el fin de crear condiciones ideales para su adhesión e implantación. Esta molécula en la vaca, es el interferón trofoblástico bovino (bINT- $\tau$ ), llamado así por el sitio de producción, pues se sintetiza en las células trofoblásticas del embrión.

A decir del mismo autor, los mecanismos por los cuales el bINT- $\tau$  favorece el inicio de una gestación, son:

- Disminuye la síntesis del principal factor luteolítico en la hembra  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , producido en las células endometriales epiteliales bovinas (CEEP). Esta disminución en la producción, busca que los procesos luteolíticos no se den, y el CL siga produciendo  $\text{P}_4$ .
- Favorece la síntesis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en las células endometriales estromales bovinas (CEES), también es la responsable de iniciar los mecanismos luteoprotectores como: la vasodilatación, la angiogénesis, la quiescencia uterina, la receptividad uterina, entre otros.
- Disminuye la transcripción del receptor de oxitocina en las CEEP, lo que reduce la producción de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

El bINT- $\tau$  es la molécula de mayor importancia en la ventana de reconocimiento materno embrionario, ya que debe inhibir los procesos luteolíticos desde antes que estos inicien. Esta se sintetiza y se secreta en altas concentraciones, entre los días 13 y 17 en promedio en la posfertilización; sin embargo, los niveles permanecen altos en promedio hasta el día 27 de la preñez (Lenis *et al.*, 2014).

#### **2.5.4. Alteración en proceso de fecundación e implantación.**

La mortalidad embrionaria temprana se da cuando el 25% o más de embriones que pasan por el oviducto hasta llegar al útero no terminan de desarrollarse, esto ocurre durante las primeras tres semanas de la gestación, pero si este evento ocurre antes del día 16-17 es normal que la vaca repita un nuevo ciclo estral (Gordon, 2004).

En animales cíclicos el período de vida del CL es corto, surgiendo posterior a la ovulación (día cero) por la luteinización de las células de la granulosa y la teca interna y desapareciendo alrededor del día 18, producto del efecto luteolítico de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

El embrión produce proteínas ácidas y el endometrio de la vaca preñada produce ácido linoleico que inhibe la síntesis de prostaglandina endometrial; estos niveles de ácido linoleico y araquidónico son más altos en vacas preñadas, lo que influye en el reconocimiento materno, esto ocurre entre el día 16 y 19 de la preñez (Hafez & Hafez 2002).

#### **2.5.5. Suplementación con progesterona después del servicio.**

Las bajas concentraciones de P4 en las fases tempranas del ciclo, producen fallas en el mantenimiento de la preñez (Green y col., 2005; Spencer *et al.*, 2007, citado por Gutiérrez, 2008).

Los embriones que se desarrollan en un ambiente con concentraciones adecuadas de P4 producen grandes cantidades de interferón Tau, que es la señal embrionaria para el mantenimiento de la gestación y factor antiluteolítico en las vacas. Esto favorece la implantación y la preñez (Mann y Lamming 2001, Mann *et al.*, 2006, citado por Gutiérrez, 2008).

Según la dosis y el momento de su administración la P4 puede desencadenar o inhibir la ovulación. La P4 constituye un factor indispensable para la regulación de la gestación; para ejercer esta acción necesita que previamente haya actuado la foliculina. Una vez realizada la fecundación inhibe las ovulaciones posteriores (Derivaux, 1982).



Durante la fase luteal temprana, el CL aumenta de tamaño y peso para alcanzar un máximo en el día 7, mientras los niveles de P4 continúan elevándose hasta obtener un valor máximo al 10º día. La producción de P4 por el CL se puede apreciar determinando los niveles plasmáticos que sería indicativo del nivel hormonal al que está sujeto el individuo. En un muestreo realizado en vacas, se reporta un nivel promedio de P4 en plasma de 6,6 ng/ml en la fase luteal del ciclo (McDonal & Pineda 1991).

## **2.6. Principios básicos de ecografía.**

### **2.6.1. Ecografía reproductiva.**

La ecografía es una técnica inocua que ofrece excelentes ventajas para el diagnóstico precoz de gestación a partir del día 20 pos inseminación; sin embargo, es más práctico y tiene menos falsos negativos cuando se hace en el día 30 pos inseminación. Entre sus ventajas se encuentra la posibilidad de realizar una evaluación más exacta y objetiva del útero y ovarios que mediante la palpación rectal (Hernández, 2009).

#### **2.6.1.1. Fundamentos Físicos.**

Su funcionamiento se basa en la emisión y recepción de ondas sonoras de alta frecuencia (no audibles para el oído humano) desde un transductor de ultrasonido (US) o sonda, que se introduce en el recto a través de cuyas paredes se examinan los órganos reproductivos de la vaca. Los impulsos de US son emitidos y dirigidos hacia el órgano evaluado gracias a los movimientos y variación del ángulo del transductor dirigidos por el operador. Estos impulsos viajan a través de los tejidos a una velocidad constante hasta encontrar un órgano en cuya superficie “rebotan” y regresan en forma de eco al transductor (Perea, 2005).

El US se define como aquel sonido que tiene una frecuencia mayor de la que puede ser oída por los seres humanos. Nuestro oído detecta un rango de frecuencias comprendido entre los 15.000 y los 20.000 Hz. Se denomina



ultrasonido a cualquier sonido que tiene una frecuencia mayor de 20.000 Hz. (Díaz, 2000 citado por Díaz, 2007).

Diez Bru, (1992) Hace referencia que los patrones ecográficos en los modos B y M, las imágenes ecográficas están formadas por puntos de diferente brillo. Cuanto más intenso sea el eco reflejado por una determinada estructura, más brillante aparecerá en la imagen. A esta intensidad de brillo se le conoce con el nombre de ecogenicidad utilizándose para describir las imágenes ecográficas los siguientes términos:

#### **2.6.1.2. Hiperecogénico, hiperecoico.**

Se produce una gran reflexión de US (escasa o nula transmisión). Los puntos en el monitor aparecen con una intensidad de brillo máxima, es decir, blancos gas, hueso (Bartrun, 1977, citado por Díez Bru, 1992).

#### **2.6.1.3. Hipoecogénico, hipoecoico.**

Genera pocos ecos y/o de baja intensidad. Cuando en el interior de la estructura normal existen interfases de menor ecogenicidad que el parénquima circundante. Ecográficamente es una imagen poco reflectante, color gris oscuro, típico de las tendinitis, desestructuración, inhomogeneidad. Típica, también, del músculo normal, hipoecoico respecto del tendón. (Díaz, 2000, citado por Díaz, 2007).

#### **2.6.1.4. Anecogénico, anecoico.**

Ausencia de ecos por no producirse reflexión de US (transmisión completa). Los puntos aparecerán de color negro, por ejemplo; los líquidos (Herring, 1985, citado por Díez Bru, 1992).



Figura 4. Ultrasonografía de folículos (El autor)

## 2.7. Diagnóstico de gestación.

Bellenda, (2002) se refiere al diagnóstico precoz de gestación en la vaca, que se puede realizar en forma práctica y rutinaria a partir del día 25 post-servicio, aunque en forma experimental se puede hacer mucho antes. Este diagnóstico debe ser sencillo y rápido, para no generar mucha manipulación sobre los cuernos, que en algunos casos puede ser una causa más de la propia pérdida embrionaria precoz estimada entre el 5 y 15%.

Se dice que el examen ecográfico transrectal entre los días 26 y 33, tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 87%. En esta etapa, el embrión mide aproximadamente 1 cm, y se encuentra en uno de los cortes más amplios del cuerno gestante, dentro de un líquido oscuro y límpido, pudiendo identificar los latidos cardíacos. Pero, después del día 40, ya se puede diferenciar la cabeza, grupa, miembros y cordón umbilical (Bellenda, 2002).

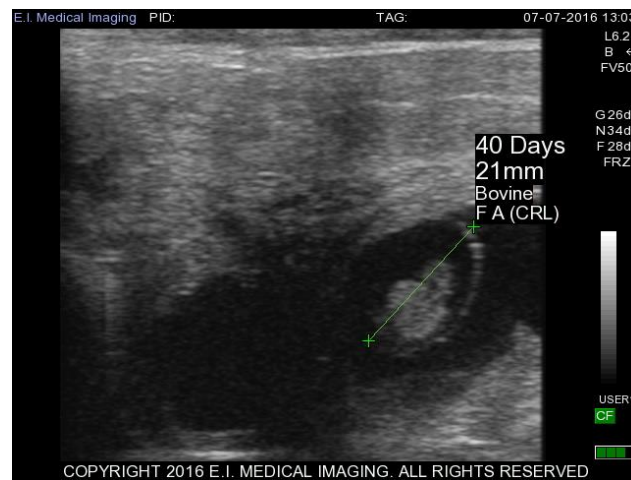


Figura 5. Diagnóstico por ultrasonido de preñez a los 40 días (El autor)



## CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Materiales

#### 3.1.1. Materiales biológicos

180 brahman mestizas, 180 pajuelas.

#### 3.1.2. Materiales químicos

Progesterona (progesterona Mad-4®), dispositivo intravaginal (CIDR®), benzoato de estradiol (Gonadiol®), prostaglandina (Ciclasé®), cipionato de estradiol (ECP®), gonadotropina coriónica equina (Novormon®).

#### 3.1.3. Materiales físicos

Termo de inseminación, pistola de inseminación, catéter, guantes ginecológicos, pipetas, jeringas, botas, overol, ecógrafo ECM Imago, agujas, jeringuillas, tanque de nitrógeno líquido.

### 3.2. Ubicación

Esta investigación se realizó en La hacienda la Clementina, ubicada en la parroquia la Unión del cantón Babahoyo de la provincia de Los Ríos, con una altura de 8 msnm con clima tropical húmedo, con una temperatura promedio anual de 27.5 °C; una precipitación anual de 2791.4 mm y una humedad relativa de 76%.

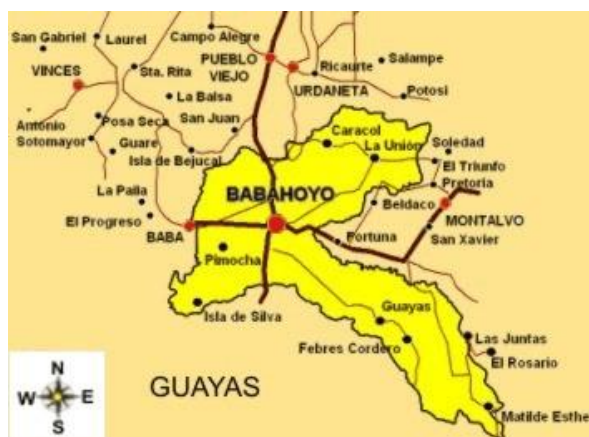


Figura 6. Ubicación de la Hacienda donde se realizó la investigación.



### 3.3. Características de la unidad de análisis.

En el presente proyecto de investigación se utilizaron 180 vacas cebú con un promedio de 2 partos con una edad entre tres a seis años, una C.C. que fluctuó entre 2,5 a 3 puntos escala 1 a 5 (Ferguson *et al.*, 1994), clínicamente sanas al diagnóstico ecográfico, con un promedio de 150 días postparto; Estas vacas permanecieron sujetas a un sistema de manejo al pastoreo con una alimentación a base de *brachiaria* de cumbes con un suministro aproximadamente de 150gr/día.

Todos los animales están sometidos a un sistema de pastoreo rotacional, con una dieta a base de *Brachiaria de cumbes* y bancos de proteína a base de maní forrajero (*Arachis pinto*), con una suplementación mineral de 150gr por día, los animales fueron sometidos a un sistema de cruzamientos estacional, donde se realiza un seguimiento ginecológico a partir de los dos meses post parto, luego se procedió a realizar un programa de IATF inseminación a tiempo fijo en todas las hembras bovinas del ensayo, luego de un mes del tratamiento se procedió a realizar un sistema de cruzamiento con monta natural, consecuentemente, transcurrido un mes se procedió hacer un diagnóstico ecográfico de gestación para determinar preñez. Luego del sistema de cruzamientos los animales que no preñaron se descartaron.



### 3.4. Metodología.

#### 3.4.1. Protocolo de IATF.

Luego de haber seleccionado las vacas para el estudio, se procedió a aplicar un tratamiento de sincronización del celo y de la ovulación con IATF a todas las vacas de los tres grupos experimentales descritos en el apartado siguiente. El protocolo de sincronización y IATF se describe en la tabla 1.

Tabla 1. **Protocolo de sincronización del celo y de la ovulación en vacas cebú.**

Día	Actividad
0	DIB 1mg y benzoato de estradiol 2 mg (Gonadiol, Sintex Argentina)
7	Extracción DIB, eCG 400 UI (Novormon, Sintex Argentina), prostaglandina 0,526 mg equivalente a 2ml (Lutraprost, Agrovvet market, Perú) y Cipionato de estradiol 1 mg (Cipiosyn, Sintex Argentina)
9	IATF con semen convencional.

La selección de las vacas se realizó 4 semanas antes de iniciar el protocolo a utilizar.

Se formaron tres grupos experimentales:

Control (n=60) sin aplicación de P4.

P-75 (n=60) se les administró 75 mg de P4 inyectable vía SC.

P-100 (n=60) se les administró 100 mg de P4 inyectable vía SC.

### 3.4.2. Aplicación de progesterona exógena.

En una manga apropiada para el manejo de los animales. Se adicionó la P4 inyectable I.M, 72 horas después a haber iniciado la IATF, al tercer grupo no se adicionó P4 exógena por ser el grupo control.

La progesterona que se utilizó es una hormona natural de larga acción, con una concentración de 25 mg por mililitro, alcanza su nivel plasmático máximo a las 4 horas, manteniendo niveles superiores a 1 ng/ml por cinco días.

Tabla 2. Tratamiento de suplementación de P4 exógena en vacas cebú.

Grupo experimental	Descripción del tratamiento
Control ( n=60)	Sin administración de P4
P-75 mg (n=60)	Se administra 75 mg de P4, SC
P-100 mg (n=60)	Se administra 100 mg de P4, SC

### 3.4.3. Diagnóstico de gestación y porcentaje de preñez.

Se realizó con la ayuda del ecógrafo ECM Imago, a los 35 días post inseminación, repitiéndose el diagnóstico a los 60 días para determinar pérdidas embrionarias durante el período.

Para determinar el porcentaje de vacas preñadas se utilizó la fórmula empleada por Hincapié *et al* (2008).

$$VP = \frac{\text{Total de vacas preñadas}}{\text{Total de vacas incluidas en cada tratamiento}} \times 100$$

### 3.5. Variables de estudio

Las variables a considerar son: la adición de progesterona inyectable a los grupos experimentales y la no adición al grupo testigo.



Se consideró como variable independiente el tratamiento y como variable dependiente la tasa de preñez.

### 3.6. Diseño experimental y pruebas estadísticas

Para el cálculo del intervalo de confianza del 95%, se aplicó la siguiente fórmula.

$$IC95\% = p \pm Z_{\alpha/2} \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Dónde:

p = positivos

$Z_{\alpha/2}$  = valor de z dado el nivel de confiabilidad del 95%, 1,96.

1 – p = negativos

Se utilizó un modelo experimental completamente aleatorizado en el cual los datos fueron procesados mediante el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, University Edition 2016).

## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Diagnósticos de preñez

En base al análisis realizado con los datos obtenidos en la investigación se presentan los siguientes resultados.

Tabla 3. **Porcentajes de preñez a los 35 y 50 días**

Tratamiento	N <sup>1</sup>		Control			T1			T2						
Progesterona, mg			0			75			100						
Variables	n <sup>2</sup>	%	IC (95%)			n <sup>2</sup>	%	IC (95%)			n <sup>2</sup>	%	IC (95%)		
Preñes 35 días	60	29	48,3	35,6 - 61,0		33	55,0	42,2 - 67,8		31	51,7	39,0 - 64,4			
Preñes 50 días	60	24	40,0	28,0 - 53,4		29	48,3	35,6 - 61,0		27	45,0	32,2 - 57,8			

<sup>1</sup>: Número de hembras por tratamiento; <sup>2</sup> Número de hembras detectadas preñadas; IC (95%):

Intervalo de confianza al 95% a través de las siguientes formula  $IC_{95\%} = p \pm Z_{\alpha/2} \times \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$

En el diagnóstico de gestación a los 35 días el grupo control presentó 29/60 (48%), el tratamiento 1 presentó 33/60 (55%) y el tratamiento 2 presentó 31/60 (51,6%); mientras que el diagnóstico de preñez a los 50 días mostró para el grupo control 24/60 (40%), el tratamiento 1 presentó 29/60 (48%), y el tratamiento 2 presentó 27 (45%).

Como se describe en la tabla 3, la tasa de preñez a los 35 días varió entre 48 y 55% en los 3 grupos experimentales, siendo esta diferencia estadísticamente similar entre tratamientos. A los 50 días post inseminación el diagnóstico de gestación mostró una reducción en el número de vacas preñadas en cada grupo experimental; estos porcentajes fueron de 40, 48 y 45% respectivamente ( $P > 0.05$ ).

Tabla 4. Nivel de Significancia entre tratamientos.

Tratamiento	Control	T1 (P-75)	T2 (P-100)	P-valor
Progesterona, mg	0	75	100	
Diagnóstico de preñez, %				
35 d post IA	48,3	55,0	51,7	0,766
50 d post IA	40,0	48,3	45,0	0,635
Mantienen preñez, 35 vs 50%	82,8	87,9	87,1	0,828

Con la aplicación, a los 3 días, posterior a la IATF de 75 mg y 100 mg de progesterona no se detectaron diferencias significativas en el diagnóstico de preñez a los 35 d ( $P=0,77$ ) o a los 50 d ( $0,64$ ) post IA. Observándose tasas medias de gestación a los 35 d del 53,35% y a los 50 d del 46.5%, con respecto al grupo control; además los tratamientos no influyeron significativamente ( $P=0.83$ ) sobre la proporción de animales que se mantuvieron preñadas a los 50 días, respecto al chequeo de las mismas vacas a los 35 días de gestación.

Tabla 5. Pérdidas embrionarias en vacas cebú luego de la administración de P4 subcutánea al momento de IATF.

Tratamiento	Control		T1		T2	
Progesterona, mg	0		75		100	
Variables	n <sup>2</sup>	%	n <sup>2</sup>	%	n <sup>2</sup>	%
Preñes 35 días	29	48,3	33	55,0	31	51,7
Preñes 50 días	24	40,0	29	48,3	27	45,0
<b>Pérdidas Embrionarias</b>	5	17.2	4	12.1	4	12.9

( $P>0,05$ ): Control, 0 mg de P4. P-75, 75mg de P4; P-100, 100mg de P4



Con la aplicación de progesterona de forma parenteral a los 3 días post Inseminación artificial se pudo determinar, que con respecto al grupo control que presentó un porcentaje de pérdidas embrionarias de 17.2%, los grupos a los que se les suministró progesterona, el porcentaje de perdidas embrionarias con fue de alrededor del 5 % por debajo del grupo control; si bien es cierto que estadísticamente no existen diferencias, es importante señalar que numéricamente existe diferencia numérica en cuanto a la reducción de pérdidas embrionarias.





## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

En los últimos años se han realizado numerosos trabajos de investigación dirigidos a mejorar la preñez después de la IA. Uno de los enfoques abordados fue intentar aumentar los niveles de P4 durante el diestro obteniendo de esta forma resultados bastante variables (Machado *et al.*, 2008).

De los datos obtenidos en el trabajo realizado en 180 unidades experimentales, a las cuales se les administró 0, 75 y 100 mg de progesterona de forma parenteral, se comprobó que no se detectaron diferencias estadísticas en el diagnóstico de preñez a los 35 días ( $P=0,77$ ) ni a los 50 días ( $P=0,64$ ) post IA. La aplicación de análogos de progesterona en bajas dosis en forma parenteral a los 3 días post inseminación no afectó el porcentaje de preñez en las vacas cebú con una condición corporal de 2,5 a 3,5 en una escala de 1 a 5, además los tratamientos no influyeron significativamente ( $P=0.83$ ) sobre la proporción de animales que se mantuvieron preñadas a los 50 días, respecto al chequeo de las mismas vacas a los 35 días de gestación 85.9% de las vacas gestantes a los 35 días post IA, se mantuvo la gestación a los 50 días, que corresponde a una pérdida embrionaria del 15% entre los animales que quedaron preñados.

Los resultados obtenidos en este estudio se fundamentan a partir de que la P4 insuficiente en los primeros días de la concepción puede causar pérdidas embrionarias y la aplicación de P4 de larga acción con dosis reducidas compensaría esta insuficiencia, disminuyendo las pérdidas de gestación, como plantean Arndt *et al.*, (2009), quienes encontraron rasgos de pérdidas embrionarias del 20 al 30 % durante los primeros días de gestación en el ganado.

En efecto bajas concentraciones de P4 uterino-circulante, se han implicado como un factor causal en la baja las tasas de preñez observados en vacas lecheras de alto rendimiento (Diskin *et al.*, 2008).



Por otro lado Pugliesi *et al.* (2014), quienes evalúan los niveles plasmáticos de progesterona realizaron una investigación en donde las vacas fueron tratadas con 150 y 300 mg de P4 de larga acción en el día 2 o 3 después de la ovulación (6-7 vacas / grupo). Las concentraciones plasmáticas de P4 fueron mayores ( $P < 0,05$ ) desde el día 2.5 -5.5 en los grupos. En conclusión, se mostró por primera vez que la suplementación de P4 de larga acción en el día 2 ó 3 después de la ovulación aumenta las concentraciones de P4 durante  $\geq 3$  días.

El aumento de las concentraciones de P4 dentro de la primera semana después de la concepción están asociados con la expresión génica alterada en el endometrio, que conduce al avance en el alargamiento conceptus (Carter *et al.*, 2008; Forde *et al.*, 2009; O'Hara *et al.*, 2014) y el aumento de la secreción de interferón-tau (Mann y Lamming, 1999; O'Hara *et al.*, 2014).

Sin embargo estudios realizados por Pugliesi *et al.* (2014), quienes han trabajado en el impacto que tiene la progesterona sobre la morfología del cuerpo lúteo encontraron que el área de CL y el flujo sanguíneo durante los días 2 al 8,5 no cambió ( $P > 0,05$ ) entre los grupos, lo que sugiere que el tratamiento con P4 no tiene efecto sobre el desarrollo del cuerpo lúteo; podemos observar que en los resultados de estos autores, el impacto de la progesterona, si bien aumenta los niveles plasmáticos de P4, no interfiere con la morfología del CL y consecuentemente con la gestación.

En otro experimento realizado por Macias & Vera (2014), donde insertaron dispositivos impregnados con P4 (CIDR) por 10 días, 7 días después de la inseminación artificial, determinaron que hay una relación entre la aplicación de P4 al grupo tratamiento, frente al grupo control con respecto a la preñez a los 30 días ( $p = 0.053$ ); lo contrario sucedió a los 60 días donde no se observó ninguna relación ( $p = 0.1$ ), arrojando datos similares a los nuestros donde los resultados con respecto al grupo control estadísticamente no son diferentes.



Por su lado, Mann y Lamming (2001) confirmaron que la adición de P4 podría ser razón de la mejora de fertilidad al adelantarse el embrión a la producción de interferón tau a la secreción de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por parte del endometrio. Sin embargo, también se ha visto que el aumento de P4 por inyección en el diestro si bien produce las modificaciones en el embrión mencionadas, también tiene un efecto paradójico en el adelanto de la luteólisis en 2 a 3 días (O'Hara *et al.* 2013).

Podemos mencionar que en los resultados arrojados de la investigación los grupos experimentales que fueron sometidos a una administración de progesterona parenteral entre 75 y 100 mg, si bien estadísticamente no muestra diferencia con el grupo control podemos mencionar que numéricamente existe una diferencia de alrededor del 5% en la disminución de las pérdidas embrionarias lo que acerca a lo enunciado por Mann y Lamming (2001), que determinan un aumento de la preñez a pesar que algunos autores postulan un acortamiento de la vida del CL.

En otra investigación realizado en vacas lecheras que fueron suplementadas con una fuente externa de P4, mediante la colocación de un dispositivo intravaginal entre los días 3 y 10 después del servicio; la tasa de preñez fue superior en las vacas tratadas al ser comparadas con el grupo control 48 y 35 %, respectivamente. Así mismo, el efecto fue más pronunciado en las vacas de primer y segundo parto 33% y 51%, respectivamente (Larson *et al.*, 2007).

Sin embargo, a pesar de que las investigaciones nos muestren un desarrollo en el metabolismo del embrión, consecuentemente también tenemos un acortamiento en la vida media del cuerpo lúteo, arrojándonos resultados similares a esta investigación en el que no se obtuvo diferencias estadísticas entre el grupo control y los tratamientos con 75 y 100 mg.



## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede concluir

- Considerando que las vacas del experimento fueron tratadas en iguales condiciones de manejo sanitario y nutricional, la administración exógena de bajas dosis de P4 vía subcutánea en vacas cebú en el trópico ecuatoriano, no se encontró evidencia estadística para afirmar que una dosis de 75 o 100 mg de la hormona tenga efectos beneficiosos para mantener la gestación de las vacas tratadas a los 35 y 50 días post-inseminación.
- Aunque la diferencia entre tratamientos no fue significativa, la administración de P4 (75 o 100 mg) a las 72 horas post-inseminación redujo las pérdidas embrionarias en alrededor de 5 puntos porcentuales, lo cual tiene importantes implicaciones prácticas y económicas.

### 6.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar nuevos estudios con la adición de progesterona parenteral entre 10 y 15 días post inseminación con la finalidad de disminuir el impacto que pueda causar la progesterona sobre el cuerpo lúteo.
- En vista de que existen varias investigaciones utilizando dosis mayores de progesterona parenteral a las de la presente investigación se recomienda utilizar dosis más bajas con la finalidad de medir el impacto de las mismas, sobre la preñez y muerte embrionaria temprana.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, H. (2001). (H, 2001) (H, 2001) Ashworth, C. J., Sales, D. I., & Wilmut, I. (1989). Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal of reproduction and fertility*, 87(1), 23-32.
- Alvarez, P. Spicer, L. Chase, C. Payton, E. Hamilton, T. Stewart, R. Hammond, A. Olson, T, and Wetteman, R. (2000). Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *J. Anim. Sci.* 2000. 78:1291–1302
- Arndt, W. J., Holle, A., Bauer, M., Kirsch, J., Schimek, D., Odde, K., Vonnahme, K. (2009). Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. Octubre 29, 2014. Sitio web: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2757707/>.
- Baruselli, PS., Reis, EL., Marques, MO., Nasser, LF., Bó, GA. (2004). The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 82-83, 479-486.
- Bazer, FW. (1992). Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals *Proc Soc Exp Biol and Med* 199, 373-384.
- Bazer, FW., and NL, First (1983). Pregnancy and parturition *JAnim Sci* 57, 425-460.
- Bearden, J., Fuquay, W. (1982). *Reproducción animal aplicada*. Trad. H.S. López. 3 ed. Cuauhtémoc, México. El Manual Moderno, S.A de C.V. 358 p.
- Becaluba, F. (2006). Métodos de sincronización de celos en bovinos. Diciembre 20, 2015, de [Infogranjas.com.ar](http://www.infogranjas.com.ar) Sitio web: <http://www.infogranjas.com.ar/inseminacion-artificial/metodos-de-sincronizacion-de-celos-en-bovinos>.



- Bellenda, O. (2002). El ultrasonido o ecografía aplicados en la reproducción animal. Julio 20, 2015, de Ecografiavet Sitio web: [http://www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia\\_en\\_Vacas\\_y\\_Yeguas.pdf](http://www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia_en_Vacas_y_Yeguas.pdf)
- Bó, GA., Cutaia, L. (s.f). Estado del arte en IATF: factores que afectan sus resultados. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). Universidad Católica de Córdoba. Agencia Córdoba Ciencia. Syntex SA.
- Bo, G., & Caccia, M. (2000). Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino. Agosto 10, 2015, de Sitio argentino de producción animal Sitio web: [http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/ecografia\\_ultrasonido/39ultrasonografia\\_reproductiva\\_en\\_bovino.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/39ultrasonografia_reproductiva_en_bovino.pdf).
- Bousfield, GR., Perry, WM., and DN Ward (1994). Gonadotropins chemistry and biosynthesis In: The physiology of reproduction Knobil, E., and J, Neil (ED 30), 1749-1792.
- Burke, J. M., De la Sota, RL., Risco, CA., Staples, CR., Schmitt, EJ-P., Thatcher, WW. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. J Dairy Sci 8, 1385-1394.
- Callejas, S. (2001). Fisiología del ciclo estral bovino. Jornadas de Biotecnología de la Reproducción en hembras de interés zootécnico, UNLZ y SYNTEX SA, Lomas de Zamora, 15.
- Carvalho, J. Carvalho, N. Reis, N. Nichi, M. Souza, A. Baruselli, P. (2008). Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* \_ *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. Theriogenology 69 167–175.
- Caravielllo, D. Z., Weigel, KA., Fricke, PM., Wiltbank, MC., Florent, MJ., & Cook, N. B. (2006). Survey of management practices related to the reproductive performance of dairy cattle on large commercial farms in the United States. J. Dairy Sci 89, 4723-4735.
- Catena, M. (2014). Fallas reproductivas durante la gestación temprana.. I Seminario Internacional Nuevas Biotecnicas Reproductivas Aplicadas en la, (pág. 2). Ecuador.



- Castañeda, L. (2011). Fisiología de la reproducción bovina: Desde la monta hasta la implantación embrionaria. Tesis de grado, médico veterinario. Noviembre 22, 2015, de Universidad de la Salle Sitio web: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5640/T14.09%20C275f.pdf?sequence=1>.
- Carter, F., Forde, N., Duffy, P., Wade, M., Fair, T., Crowe, M. A., & Lonergan, P. (2008). Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 20(3), 368-375.
- Cunningham, J. (2003). Fisiología Veterinaria: 3ª ed. España. Elsevier p. 421.
- Crowe, M. A., & Mullen, M. P. (2013). Regulation and Function of Gonadotropins Throughout the Bovine Oestrous Cycle. INTECH Open Access Publisher.
- Del Valle Díaz Thaís (2008). Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En C. G. Stagnaro, & N. M. Belloso (Edits.), *Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito* (págs. 546-554).
- Clemente, M., de La Fuente, J., Fair, T., Al Naib, A., Gutierrez-Adan, A., Roche, J. F. & Lonergan, P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium?. *Reproduction*, 138(3), 507-517. Trujillo, Venezuela: Ediciones Astro Data S.A. Obtenido de [http://www.avpa.ula.ve/libros\\_nacionales.html](http://www.avpa.ula.ve/libros_nacionales.html).
- Derivaux, J. (1982). Reproducción de los animales domésticos. Trad. J. Gómez. 2ed. España, Editorial Acribia. 486 p.
- Díaz, N., Garrido, R., Castellano, J. (Agosto 07, 2007). Metodología y técnicas. *Ecografía: principios físicos, ecógrafos y lenguaje ecográfico*. Elsevier, 33, p.362-369. Mayo 15, 2015, De Semergen Base de datos.
- Díez, BN., (Julio, 1992). Principios básicos de la ecografía. Facultad de veterinaria de Madrid, 12, p. 138-147. Mayo 25, 2015, De Clínica veterinaria de pequeños animales. Base de datos.
- Diskin, M., Austin EJ., Roche, JF. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol*;23:211-228.



- Diskin, M. G., & Morris, D. G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(s2), 260-267.
- Ferguson, J., Galligan, D., & Thomsen, N. (1994). Principal descriptors of body condition score in holstein cows. *Elsevier*, 77, :2695-2703. 2016, enero 12, De Pubmed Base de datos. Febrero 7.
- Fink, G. (1988). Gonadotropin secretion and its control. In: *The physiology of reproduction* ( Edited by Knobil, E and J., Neil. 32, 1349-1377.
- Forde, N., Carter, F., Fair, T., Crowe, M. A., Evans, A. C. O., Spencer, T. E. & Lonergan, P. (2009). Progesterone-regulated changes in endometrial gene expression contribute to advanced conceptus development in cattle. *Biology of Reproduction*, 81(4), 784-794.
- Galina, C., Valencia, J. (2006). *Reproducción de animales domésticos: México*, Segunda Edicion, Limusa. p. 128, 130, 135, 136.
- Garrett, J. E., Geisert, R. D., Zavy, M. T., & Morgan, G. L. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2), 437-446.
- Gazquez, A., & Rodríguez, A. (2004). *Tratado de histología veterinaria*. España: Masson.
- Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M., & MacNeil, M. D. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. *J Anim Sci* 79, 1-4.
- Ginther, OJ., Bergfelt, DR., Kulick, LJ., Kot, K. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod*; 62:920–927.
- Gordon, I. (2004). *Tecnología de la reproducción de los animales de granja*. Trad. David N.M. España, Editorial ACRIBIA, S.A. 429 p.
- Gumen, A. J., Guenther, M., & Wiltbank, M. C., (2003). Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 86, 3184-3194.





- Gutiérrez, J. C. (2008). Manual de ganadería doble propósito: Hormonas de la reproducción bovina. Enero 5, 2016, de Asociación venezolana de producción animal Sitio web: [http://www.avpa.ula.ve/libro\\_desarrollosost/pdf/capitulo\\_42.pdf](http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_42.pdf)
- Gutiérrez, J. C., Palomares, R., Sandoval, J., De Ondíz, A., Portillo, G., & Soto, E. (2005, junio 13). Uso del protocolo ovsynch en el control del anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito. FCV-LUZ, XV, 7. 2016, enero 10, De <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28284/2/art1.pdf> Base de datos.
- Gutiérrez, J. C., González, R., Palomares, R., Soto, E. (2006). Fertilidad de vacas mestizas de doble propósito tratado con un progestágeno intravaginal más eCG en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. III Jornadas Nacionales de Investigación en Reproducción Animal (JONIRA). Marzo, 6 al 9. Barquisimeto-Venezuela.
- Gutiérrez, J.C., Palomares, R., González, R., Portillo, G., Montero, M., Rubio, J., Hernández, H., Soto, E. (2008). Shortening Anoestrous Interval In Crossbred Dual Purpose Cows Using Progestagen Intravaginal Sponges plus eCG and PGF2 $\alpha$ . ReprodDomAnim (In Press).
- Hafez, E. S. (1996). Reproducción e inseminación artificial. Trad. R. Palacios. 6 ed. Interamericana. Carolina del Sur, E.E.U.U. 542 p.
- Hafez, E., & Hafez, B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández, C. J. (2000). "Causas y Tratamiento de la infertilidad en la vaca lechera". Octubre 29, 2014. Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio web: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRqZooG010.pdf>.
- Hernández, J. (2009). Manual de prácticas de reproducción animal. Septiembre 08, 2015, de Universidad Nacional Autónoma de Mexico Sitio web: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60\\_Reproduccion\\_Animal.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60_Reproduccion_Animal.pdf).



- Hincapié, J., Campo, E., Blanco, G. (2008). Trastornos reproductivos en la hembra bovina. Tegucigalpa, Honduras: Litocom.
- Illera, M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. Madrid: Aedos.
- Jiménez, A. (2014). Revisión de la utilidad de la Gonadotropina coriónica equina en la reproducción bovina. Noviembre 15, 2015, de Reprodaction Sitio web: <http://www.reprodaction.com/es/Trials-y-Articulos/2014.03.01-Revision-de-la-utilidad-de-la-Gonadotropina-corionica-equina-en-la-reproduccion-bovina>
- J. L. Ortega Sánchez \*, J. E. (2011). Efecto De La Aplicación De Un Implante De Progesterona En Vacas Repetidoras Holstein Friessian. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas.*, 74.
- Kastelic, J. P., Ambrose, J. D., (2004). Effects of modified OvSynch protocols, including presynchronization, and/or post-breeding pLH or hCG, on pregnancy rates in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 82, 334.
- Kennedy, T., Gillio-Meina, C. & Han Phang, S. (2007). Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and decidualization: *Reproduction*; 134: 635 – 643.
- Larson, S. F., Butler, W. R., & Currie, W. B. (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim Reprod Sci*102:172-179.
- Lenis Sanín Yasser, Tamayo Arango Lynda, Rodríguez Osorio Nelida, Duque Muñoz Leonardo, Naranjo Nicholls Jose, Carrillo González Diego, Duque Quintero Mónica, Maldonado Estrada Juan, Tarazona Morales Ariel. (2014). Reproducción de la vaca. Manual didáctico sobre la reproducción, gestación, lactancia y bienestar de la vaca. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.
- Loeza, D. (2012). Manual de diagnóstico de gestación en hembras bovinos a través de palpación transrectal y ultrasonografía. Julio 20, 2015, de Universidad Veracruzana Sitio web: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/30873/1/LoezaDeloya.pdf>



- López, R. (2011). Ultrasonografía aplicada a la reproducción bovina. Mayo 15, 2015, de Universidad de cuenca Sitio web: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3067/1/mv184.pdf>.
- Macías, J. Vera, A. (Febrero 28, 2014). Evaluación de progesterona intravaginal post inseminación artificial para reducir la muerte embrionaria en vacas. Espamciencia, vol 5, pp. 25-30. Noviembre 05, 2015, De Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López Base de datos.
- Mc Donald, L., & Pineda, M. (1991). Endocrinología veterinaria y reproducción. 4a. de., México, Interamericana Mc Graw-Hill: 318-320 y 394.
- Machado, R., Bergamaschi, M. A, Barbosa, R.T., de Oliveira, C.A., Binelli, M. (2008). Ovarian function in Nelore (*Bos Taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. *Theriogenology* 69, 798–804.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121, 175–180.
- Macmillan, K. L., & Henderson, H. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin Fea to estrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrous in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6:245-254. 66 66.
- McNeill, R. E., Diskin, M. G., Sreenan, J. M., & Morris, D. G. (2006). Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. *Theriogenology*, 65(7), 1435-1441.
- Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F., Thatcher, W. W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 84, 1646-1659.
- Mujika, I. (2005). El estrés calórico, efecto en las vacas lecheras. Noviembre 25, 2016. Sitio web: [http://www.produccion-animal.com.ar/clima\\_y\\_ambientacion/76-estrescalorico.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/clima_y_ambientacion/76-estrescalorico.pdf)



- Mufeed, A., & Wadie, L. (2007). Effect of progesterone (P4) intravaginal device (CIDR) to reduce embryonic loss and to synchronize return to oestrus of previously timed inseminated lactating dairy cows. Noviembre 25, 2014, de Animal reproduction science Sitio web:  
[http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320\(07\)00239-4/abstract](http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320(07)00239-4/abstract).
- Noris, R. Tiburcio, L. Díaz, T. Chacín, F. (2006). Ondas foliculares ováricas en vacas Brahman y Mestizas (*Bos indicus x Bos taurus*), ubicadas en los llanos centrales venezolanos. Noviembre 25, 2016. Sitio web:  
[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692006000300008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692006000300008)
- O'Hara, L., Forde, N., Carter, F., Rizos, D., Maillo, V., Ealy, A., Kelly, A., Rodriguez, P., Isaka, N., Evans, A., & Lonergan, P. (2013). Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. Reprod Fertil Dev. doi:10.1071/RD12370.
- Odde, K. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J Anim Sci 68:817-830.
- Okuda, K., & Sakumoto, R. (2003). Multiple roles of TNF super family members in corpus luteum function. Reproductive Biology and Endocrinology, 1(1), 1.
- Pascual, I. (sf). Reproducción animal. Noviembre 24, 2016, de Sitio argentino de producción animal Sitio web:  
[http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/186](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/186)
- Peña, J. M., Gongora, A., Estrada, J. (2007). Factores de crecimiento en el desarrollo folicular, embrionario temprano e implantación en la producción de embriones bovinos: Rev. MVZ Córdoba 12(1): p. 942-954.
- Perea, F. (2005). Manual de ganadería doble propósito: Ecografía reproductiva. Octubre 03, 2015, de Asociación venezolana de producción animal Sitio web:  
[http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manualganaderia/seccion8/articulo1-s8.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manualganaderia/seccion8/articulo1-s8.pdf)



- Pereja, Mejía, Rafael. González Calderón, Rodrigo. Determinación del efecto de la inseminación artificial inducida a tiempo fijo, con dos protocolos de sincronización en vacas sometidas al destete precoz en los llanos orientales. Bogota, Diciembre 2006. Universidad de la Salle.
- Peters, KE., Bergfeld, EG., Cupp, AS., Kojima, EN., Mariscal, V., Sanchez, T., Wehrman, ME., Grotian, HE., Hamernik, DL., Kitok, RJ., and JE, Kinder (1994). Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea but is not required to maintain CL function in heifers Biol Reprod 51, 1248-1254.
- Pursley, JR., Fricke, PM., Garverick, HA., Kesler, DJ., Ottobre, JS., Stevenson, J. S., Wiltbank, MC. (2001). Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA; 63.
- Pursley, JR., Mee, MO., Wiltbank, MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. Theriogenology 44, 915-923.
- Quintela, L. (2006). Ecografía y reproducción en la vaca. Santiago de Compostela: Servizo de publicacións e intercambio científico.
- Ramírez, L., (2006) <sup>a</sup>. El hipotálamo de los mamíferos domésticos. Universidad de Los Andes – Trujillo. Venezuela. Mundo Pecuário, Vol. II, Nº 1, 16-17.
- Ramírez, L. (2006) <sup>b</sup>. Hormonas hipofisarias del bovino Universidad de Los Andes-Trujillo. Venezuela. Mundo Pecuário, Vol. II, Nº 1, 18-19.
- Rekawiecki, R., & Kotwica, J. (2006, August). Molecular regulation of progesterone (P4) synthesis within the bovine corpus luteum (CL). In REPRODUCTION In Domestic Animals (Vol. 41, No. 4, Pp. 356-356). 9600 Garsington Rd, Oxford OX4 2DQ, Oxon, England: Blackwell Publishing.
- Rekawiecki, R., Kowalik, M., Slonina, D., Kotwica, J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum: Journal Of Physiology and Pharmacology, 59, Suppl 9, 75-89.



- Rippe, CA. (2009). Ciclo Estral. The Dairy Cattle Reproduction Council does not support one product over another and any mention herein is meant as an example not an endorsement. Servicios Técnicos, ABS Global Inc.
- Rutllant, J., Lopez-Gatius, F., Camon, J., López Plana, C., and M, Lopez (1997). A scanning electron microscope study of the structural component of the bovine vaginal fluid at oestrus J. Vet. Med A44, 237-241.
- Rivera, M. (2012). Gestación. Julio 22, 2015, de Manual de reproducción bovina Sitio web: [http://reproduccionbovina-mgrg.blogspot.com/p/gestacion\\_5.html](http://reproduccionbovina-mgrg.blogspot.com/p/gestacion_5.html).
- Rippe, C. A. (2009). El ciclo estral. In 2009 Dairy Cattle Reproduction Conference. Minneapolis, MN (pp. 111-117).
- Sartori, R. Gimenes, LU. Monteiro, J. Melo, LF. Baruselli, PS. Bastos, MR. (2016). Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction, *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.016.
- Sartori, R. Ricieri, B. Costa, M.(2010). Physiological Bases for Understanding Estrous Cycle Differences Between *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38 (Supl 2): s277-s315. Noviembre 25, 2016. Sitio web: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.955.45&rep=rep1&type=pdf>
- Schroeder, W., Hans. (1999). Fisiopatología Reproductiva de la Vaca: Librería Medica CELSUS. P. 235-238
- Sosa, H. J, (2000). Efecto de los implantes de progestágeno post-servicio de inseminación artificial en la fertilidad de vacas repetidoras. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras. 18 p.
- Soto, E. (2001). Mejora reproductiva mediante el control hormonal de la actividad ovárica postparto en vacas mestizas de doble propósito. En: Reproducción Bovina. C González-Stagnaro (ed). Fundación Girarz. Maracaibo-Venezuela 20:325-331.



- Spencer, T. E., & Bazer, F. W. (2002). Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 7, d1879-98.
- Spencer, T. E., Johnson, G. A., Burghardt, R. C., & Bazer, F. W. (2004). Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. *Biology of Reproduction*, 71(1), 2-10.
- Spencer, T. E., Johnson, G. A., Bazer, F. W., Burghardt, R. C., & Palmarini, M. (2006). Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*, 19(1), 65-78.
- Spencer, T., Johnson, G., Bazer Fuller, W., Burghardt, R & Palmarini, M. (2007). Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*, 19, 65–78.
- Stevenson, JS., Pursley, JR., Garverick, HA., Fricke, PM., Kesler, DJ., Ottobre, JS., Wiltbank, MC. (2006). Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J Dairy Sci* 89, 2567-2578.
- Stronge, A. J. H., Sreenan, J. M., Diskin, M. G., Mee, J. F., Kenny, D. A., & Morris, D. G. (2005). Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, 64(5), 1212-1224.
- Tejero, J. (Enero, 2008). "Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona". Universidad de León, Facultad de veterinaria. León. p. 34-35. Mayo 20, 2015, De Sitio argentino de producción animal. Base de datos.
- Tovio N, D. A. (2012). Factores relacionados con la dinámica. *Revista Spei Domus volumen 8*, 39.
- Tucker, HA (1994). Lactation and its hormonal control in: The physiology of reproduction Knobil, E. and J. Neil (Eds) 57, 1065-1098.
- Vasconcelos, LM., Silcox, RW., Rosa, GJ., Pursley, JR., Wiltbank, MC. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after





- synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52, 1067-1078.
- Velásquez, P., José, G. (2004). Estudio del reconocimiento y la unión entre gametos en la especie bovina (*Bos taurus*). Papel del ácido siálico en la interacción espermatozoide-zona pelúcida: Tesis Doctoral. p. 53-60.
- Veneranda, G., Filippi, L., Racca, D., Cutaia, L., Bó, G. (2008). Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and eCG *Reprod, Fertil Dev* 20, 91.
- Vizcarra, JA., Wettemann, RP., Braden, TD., Turzillo, AM and Tm, Nett (1997). Effect of gonadotropin- releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropin subunits in cows *endocrinology* 138: 594-601.
- Williams, G., Gasai, O., Guzman, G., & Stanko, R. (1996, abril). Mechanisms regulating suckling mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*, 42:289-297.
- Wiltbank, MC.(1994). Cell types and hormonal mechanisms associated with Mid-cycle corpus luteum function. *J Anim Sci* 72, 1873-1883.
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Cunha, A. P., Giordano, J. O., Fricke, P. M., ... & Diskin, M. G. (2014). Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8(s1), 70-81.
- Woody, C.O., First, N. L., Pope, A. L. (1967): Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. *J Anim Sci* 26, 139–141.
- Zheng, J., Fricke, PM., Reynolds, LP., and DA, Redmer(1994). Evaluation of growth proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle *Biol Repro* 51, 623-632.



## ANEXOS

**Anexo 1.** Registros de preñez del grupo control a los 35 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento Control			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnóstico de Preñez
1	24/02/2015	05 1014	v
2	24/02/2015	05 4624	v
3	24/02/2015	05 4634	p
4	24/02/2015	05 4678	V
5	24/02/2015	05 7625	v
6	24/02/2015	06 1104	p
7	24/02/2015	07 5053	p
8	24/02/2015	07 6031	V
9	24/02/2015	07 6087	V
10	24/02/2015	07 7573	V
11	24/02/2015	08 2392	V
12	24/02/2015	08 5071	V
13	24/02/2015	08 9379	V
14	24/02/2015	09 1114	V
15	24/02/2015	09 2311	p
16	24/02/2015	09 9325	p
17	24/02/2015	10 1001	P
18	24/02/2015	10 1034	V
19	24/02/2015	10 2222	p
20	24/02/2015	10 2219	P
21	24/02/2015	10 2267	P
22	24/02/2015	10 2296	p
23	24/02/2015	10 7007	V
24	24/02/2015	10 9075	p
25	24/02/2015	11 1114	P
26	24/02/2015	11 3189	p
27	24/02/2015	11 1152	V
28	24/02/2015	11 1206	P
29	24/02/2015	11 1210	V
30	24/02/2015	11 2014	V
31	24/02/2015	11 2037	V
32	24/02/2015	11 2060	V
33	24/02/2015	11 2073	P



34	24/02/2015	11 2092	P
35	24/02/2015	11 2140	P
36	24/02/2015	11 5006	V
37	24/02/2015	11 5150	P
38	24/02/2015	11 5152	V
39	24/02/2015	11 5228	V
40	24/02/2015	11 5247	P
41	24/02/2015	11 5434	V
42	24/02/2015	11 7032	V
43	24/02/2015	11 9035	V
44	24/02/2015	11 9284	p
45	24/02/2015	11 9285	P
46	24/02/2015	11 9310	P
47	24/02/2015	11 9292	p
48	24/02/2015	12 3008	P
49	24/02/2015	12 4509	V
50	24/02/2015	12 4519	V
51	24/02/2015	12 4590	p
52	24/02/2015	12 4621	V
53	24/02/2015	12 4627	P
54	24/02/2015	12 4628	P
55	24/02/2015	12 4856	V
56	24/02/2015	12 5001	V
57	24/02/2015	12 5075	p
58	24/02/2015	12 5131	V
59	24/02/2015	12 7003	p
60	24/02/2015	12 9015	V
		<b>24</b>	<b>40.00%</b>

**Anexo 2.** Registros de preñez del Tratamiento 1 (75mg) progesterona a los 35 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento 1 (75mg P4)			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnostico Preñez
1	25/02/2015	05 6014	v
2	25/02/2015	06 1228	v
3	25/02/2015	06 2059	V
4	25/02/2015	07 1381	V
5	25/02/2015	07 5081	p
6	25/02/2015	08 1250	p
7	25/02/2015	08 4775	V
8	25/02/2015	08 4976	p
9	25/02/2015	09 1153	p
10	25/02/2015	09 3045	p
11	25/02/2015	09 4714	V
12	25/02/2015	09 5170	p
13	25/02/2015	09 9283	p
14	25/02/2015	09 9364	V
15	25/02/2015	10 1026	P
16	25/02/2015	10 1342	V
17	25/02/2015	10 1353	P
18	25/02/2015	10 2296	p
19	25/02/2015	10 4512	V
20	25/02/2015	10 5068	V
21	25/02/2015	10 5114	P
22	25/02/2015	10 7049	V
23	25/02/2015	10 7085	P
24	25/02/2015	10 7097	V
25	25/02/2015	11 7107	p
26	25/02/2015	10 9372	V
27	25/02/2015	10 9383	V
28	25/02/2015	11 1116	p
29	25/02/2015	11 1144	V
30	25/02/2015	11 1181	p
31	25/02/2015	11 1194	V
32	25/02/2015	11 2075	P
33	25/02/2015	11 2078	V
34	25/02/2015	11 2104	V
35	25/02/2015	11 2183	P



36	25/02/2015	11 2261	P
37	25/02/2015	11 2275	P
38	25/02/2015	11 3023	V
39	25/02/2015	11 3106	V
40	25/02/2015	11 3107	V
41	25/02/2015	11 3118	P
42	25/02/2015	11 5022	p
43	25/02/2015	11 3297	p
44	25/02/2015	11 5045	P
45	25/02/2015	11 5273	P
46	25/02/2015	11 5342	P
47	25/02/2015	11 5376	V
48	25/02/2015	11 5384	P
49	25/02/2015	11 5450	p
50	25/02/2015	11 5427	P
51	25/02/2015	11 7044	V
52	25/02/2015	11 7087	V
53	25/02/2015	11 9018	V
54	25/02/2015	11 9046	p
55	25/02/2015	11 9070	V
56	25/02/2015	11 9075	V
57	25/02/2015	11 9079	P
58	25/02/2015	11 9174	p
59	25/02/2015	11 9114	P
60	25/02/2015	11 9124	P
		33	55%

**Anexo 3.** Registros de preñez del Tratamiento (100mg) progesterona a los 35 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento 2 (100mg P4)			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnostico Preñez
1	26/02/2015	06 2087	V
2	26/02/2015	06 3155	V
3	26/02/2015	06 4620	V
4	26/02/2015	08 3110	V
5	26/02/2015	09 9163	V
6	26/02/2015	06 2494	p
7	26/02/2015	10 1236	V
8	26/02/2015	10 2116	P
9	26/02/2015	10 2321	P
10	26/02/2015	10 2424	V
11	26/02/2015	10 4609	P
12	26/02/2015	10 4664	V
13	26/02/2015	11 5204	P
14	26/02/2015	10 5265	p
15	26/02/2015	10 7005	P
16	26/02/2015	10 9042	V
17	26/02/2015	11 1043	P
18	26/02/2015	11 1084	P
19	26/02/2015	11 1097	P
20	26/02/2015	11 1119	p
21	26/02/2015	11 1125	p
22	26/02/2015	11 1227	V
23	26/02/2015	11 2123	V
24	26/02/2015	11 2125	V
25	26/02/2015	11 2157	V
26	26/02/2015	11 2179	V
27	26/02/2015	11 2022	p
28	26/02/2015	11 3025	p
29	26/02/2015	11 3067	V
30	26/02/2015	11 3144	V
31	26/02/2015	11 3173	V
32	26/02/2015	11 3212	V
33	26/02/2015	11 3231	v
34	26/02/2015	11 3246	V
35	26/02/2015	11 3252	P



36	26/02/2015	11 3262	V
37	26/02/2015	11 5028	P
38	26/02/2015	11 5124	P
39	26/02/2015	11 5133	p
40	26/02/2015	11 5285	p
41	26/02/2015	11 5389	V
42	26/02/2015	11 7067	P
43	26/02/2015	11 9177	P
44	26/02/2015	11 9175	P
45	26/02/2015	11 9049	V
46	26/02/2015	11 9242	P
47	26/02/2015	12 1010	V
48	26/02/2015	12 1024	P
49	26/02/2015	12 1035	P
50	26/02/2015	12 1052	V
51	26/02/2015	12 1065	P
52	26/02/2015	12 1067	P
53	26/02/2015	12 4510	V
54	26/02/2015	12 4526	P
55	26/02/2015	12 4533	V
56	26/02/2015	12 4673	p
57	26/02/2015	12 4813	p
58	26/02/2015	12 5050	V
59	26/02/2015	12 9003	P
60	26/02/2015	12 9006	V
		31	51.66

**Anexo 4.** Registros de preñez del grupo control a los 50 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento Control			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnóstico de Preñez
1	24/02/2015	05 1014	v
2	24/02/2015	05 4624	v
3	24/02/2015	05 4634	p
4	24/02/2015	05 4678	V
5	24/02/2015	05 7625	v
6	24/02/2015	06 1104	p
7	24/02/2015	07 5053	p
8	24/02/2015	07 6031	V
9	24/02/2015	07 6087	V
10	24/02/2015	07 7573	V
11	24/02/2015	08 2392	V
12	24/02/2015	08 5071	V
13	24/02/2015	08 9379	V
14	24/02/2015	09 1114	V
15	24/02/2015	09 2311	p
16	24/02/2015	09 9325	p
17	24/02/2015	10 1001	P
18	24/02/2015	10 1034	V
19	24/02/2015	10 2222	p
20	24/02/2015	10 2219	P
21	24/02/2015	10 2267	P
22	24/02/2015	10 2296	p
23	24/02/2015	10 7007	V
24	24/02/2015	10 9075	p
25	24/02/2015	11 1114	P
26	24/02/2015	11 3189	p
27	24/02/2015	11 1152	V
28	24/02/2015	11 1206	P
29	24/02/2015	11 1210	V
30	24/02/2015	11 2014	V
31	24/02/2015	11 2037	V
32	24/02/2015	11 2060	V
33	24/02/2015	11 2073	P
34	24/02/2015	11 2092	P



35	24/02/2015	11 2140	P
36	24/02/2015	11 5006	V
37	24/02/2015	11 5150	P
38	24/02/2015	11 5152	V
39	24/02/2015	11 5228	V
40	24/02/2015	11 5247	P
41	24/02/2015	11 5434	V
42	24/02/2015	11 7032	V
43	24/02/2015	11 9035	V
44	24/02/2015	11 9284	p
45	24/02/2015	11 9285	P
46	24/02/2015	11 9310	P
47	24/02/2015	11 9292	p
48	24/02/2015	12 3008	P
49	24/02/2015	12 4509	V
50	24/02/2015	12 4519	V
51	24/02/2015	12 4590	p
52	24/02/2015	12 4621	V
53	24/02/2015	12 4627	P
54	24/02/2015	12 4628	P
55	24/02/2015	12 4856	V
56	24/02/2015	12 5001	V
57	24/02/2015	12 5075	p
58	24/02/2015	12 5131	V
59	24/02/2015	12 7003	p
60	24/02/2015	12 9015	V
		<b>24</b>	<b>40.00%</b>



**Anexo 5.** Registros de preñez del Tratamiento 1 (75mg) progesterona a los 50 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento 1 (75mg P4)			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnostico Preñez
1	25/02/2015	05 6014	v
2	25/02/2015	06 1228	v
3	25/02/2015	06 2059	V
4	25/02/2015	07 1381	V
5	25/02/2015	07 5081	p
6	25/02/2015	08 1250	p
7	25/02/2015	08 4775	V
8	25/02/2015	08 4976	p
9	25/02/2015	09 1153	p
10	25/02/2015	09 3045	p
11	25/02/2015	09 4714	V
12	25/02/2015	09 5170	p
13	25/02/2015	09 9283	p
14	25/02/2015	09 9364	V
15	25/02/2015	10 1026	P
16	25/02/2015	10 1342	V
17	25/02/2015	10 1353	P
18	25/02/2015	10 2296	p
19	25/02/2015	10 4512	V
20	25/02/2015	10 5068	V
21	25/02/2015	10 5114	P
22	25/02/2015	10 7049	V
23	25/02/2015	10 7085	P
24	25/02/2015	10 7097	V
25	25/02/2015	11 7107	p
26	25/02/2015	10 9372	V
27	25/02/2015	10 9383	V
28	25/02/2015	11 1116	p
29	25/02/2015	11 1144	V
30	25/02/2015	11 1181	p
31	25/02/2015	11 1194	V
32	25/02/2015	11 2075	P
33	25/02/2015	11 2078	V
34	25/02/2015	11 2104	V



35	25/02/2015	11 2183	P
36	25/02/2015	11 2261	P
37	25/02/2015	11 2275	P
38	25/02/2015	11 3023	V
39	25/02/2015	11 3106	V
40	25/02/2015	11 3107	V
41	25/02/2015	11 3118	P
42	25/02/2015	11 5022	p
43	25/02/2015	11 3297	p
44	25/02/2015	11 5045	P
45	25/02/2015	11 5273	P
46	25/02/2015	11 5342	P
47	25/02/2015	11 5376	V
48	25/02/2015	11 5384	P
49	25/02/2015	11 5450	p
50	25/02/2015	11 5427	P
51	25/02/2015	11 7044	V
52	25/02/2015	11 7087	V
53	25/02/2015	11 9018	V
54	25/02/2015	11 9046	p
55	25/02/2015	11 9070	V
56	25/02/2015	11 9075	V
57	25/02/2015	11 9079	P
58	25/02/2015	11 9174	p
59	25/02/2015	11 9114	P
60	25/02/2015	11 9124	P
		29	48%

**Anexo 6.** Registros de preñez del Tratamiento 2 (100mg) progesterona a los 50 días post inseminación artificial y la adición de progesterona parenteral.

Tratamiento 2 (100mg P4)			
Nº	Fecha	Nº Animales	Diagnostico Preñez
1	26/02/2015	06 2087	V
2	26/02/2015	06 3155	V
3	26/02/2015	06 4620	V
4	26/02/2015	08 3110	V
5	26/02/2015	09 9163	V
6	26/02/2015	06 2494	p
7	26/02/2015	10 1236	V
8	26/02/2015	10 2116	P
9	26/02/2015	10 2321	P
10	26/02/2015	10 2424	V
11	26/02/2015	10 4609	P
12	26/02/2015	10 4664	V
13	26/02/2015	11 5204	P
14	26/02/2015	10 5265	p
15	26/02/2015	10 7005	P
16	26/02/2015	10 9042	V
17	26/02/2015	11 1043	P
18	26/02/2015	11 1084	P
19	26/02/2015	11 1097	P
20	26/02/2015	11 1119	p
21	26/02/2015	11 1125	p
22	26/02/2015	11 1227	V
23	26/02/2015	11 2123	V
24	26/02/2015	11 2125	V
25	26/02/2015	11 2157	V
26	26/02/2015	11 2179	V
27	26/02/2015	11 2022	p
28	26/02/2015	11 3025	p
29	26/02/2015	11 3067	V
30	26/02/2015	11 3144	V
31	26/02/2015	11 3173	V
32	26/02/2015	11 3212	V
33	26/02/2015	11 3231	v
34	26/02/2015	11 3246	V



35	26/02/2015	11 3252	P
36	26/02/2015	11 3262	V
37	26/02/2015	11 5028	P
38	26/02/2015	11 5124	P
39	26/02/2015	11 5133	p
40	26/02/2015	11 5285	p
41	26/02/2015	11 5389	V
42	26/02/2015	11 7067	P
43	26/02/2015	11 9177	P
44	26/02/2015	11 9175	P
45	26/02/2015	11 9049	V
46	26/02/2015	11 9242	P
47	26/02/2015	12 1010	V
48	26/02/2015	12 1024	P
49	26/02/2015	12 1035	P
50	26/02/2015	12 1052	V
51	26/02/2015	12 1065	P
52	26/02/2015	12 1067	P
53	26/02/2015	12 4510	V
54	26/02/2015	12 4526	P
55	26/02/2015	12 4533	V
56	26/02/2015	12 4673	p
57	26/02/2015	12 4813	p
58	26/02/2015	12 5050	V
59	26/02/2015	12 9003	P
60	26/02/2015	12 9006	V
		27	45%



### Anexo 7. Porcentajes de preñez a los 35 y 60 días

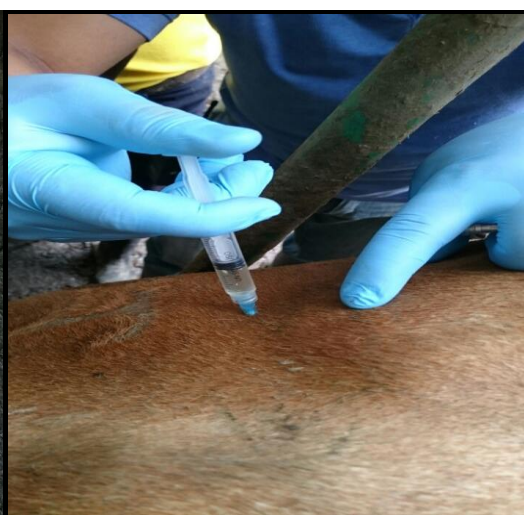
N° tratamiento	Animales	60/ TC	T1 (75mg p4)	T2 (100mg p4)
preñes 35 días		29 (48%)	33 (55%)	31 (51,6%)
Preñes 60 días		24 (40%)	29 (48%)	27 (45%)

**Anexo 8.** Análisis chi 2 Utilizando el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS University Edition a través de una regresión logística, considerando la preñez como una variable binomial.

Tratamiento	N <sup>1</sup>	Control			T1			T2		
Progesterona, mg		0			75			100		
Variables		n <sup>2</sup>	%	IC (95%)	n <sup>2</sup>	%	IC (95%)	n <sup>2</sup>	%	IC (95%)
Preñes 35 días	60	29	48,3	35,6 - 61,0	33	55,0	42,2 - 67,8	31	51,7	39,0 - 64,4
Preñes 60 días	60	24	40,0	28,0 - 53,4	29	48,3	35,6 - 61,0	27	45,0	32,2 - 57,8

## Anexo 9. Registros fotográficos del protocolo de IATF.

---







**Anexos 10.** Aplicación de la progesterona parenteral a los tratamientos 1 y 2 al día 3 post inseminación Artificial.



## Anexo 11. Resultados Ecográficos.

